

**Untersuchung von Hautrötung und Helligkeit mittels
verschiedener Farbmessverfahren *in vitro* und *in vivo***

**Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades**

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

**von: Katharina Krull
geboren am 02.03.1983 in Erfurt**

Gutachter:

1.

2.

3.

Tag der öffentlichen Verteidigung:

Abkürzungsverzeichnis

a*	Achse des dreidimensionalen Farbraums für „Rot-Grün“
ANOVA	Varianzanalyse
b*	Achse des dreidimensionalen Farbraums für „Blau-Gelb“
bzw.	beziehungsweise
°C	Grad Celsius (Temperatureinheit)
ca.	circa
Chroma 200	Chromameter 200
Chroma 300	Chromameter 300
CIE	Commision International De L'Eclairage
CIELAB	von Internationaler Beleuchtungscommission CIE festgelegter Farbraum LAB
CK	Courage & Khazaka
CM	Corneometer
CRF	Case Report Form
CV	Coefficient of Variation
DIN	Deutsche Industrienorm
df	Freiheitsgrade
d.h.	das heisst
ΔE	Delta E, berechnet aus L*, a* und b*
engl.	englisch
et al.	und andere
Fa.	Firma
FSU	Friedrich- Schiller- Universität
g/h/m ²	Gramm pro Stunde pro Quadratmeter
ggf.	gegebenenfalls
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
h	Stunde
H ₂ O	Wasser
K	Kontrollfeld
Km/h	Kilometer pro Stunde
L*	Achse des dreidimensionalen Farbraums für „Helligkeit“

Abkürzungsverzeichnis

LAB	Achsen des dreidimensionalen Farbraums
LED	Light Emitting Diode
Log	Logarithmus
max.	maximal
Mexa Ery	Mexameter Erythem
Mexa Mel	Mexameter Melanin
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
MX	Mexameter
µl	Mikroliter
N	Newton
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
PC	Personal Computer
PUVA	Psoralen plus UV- A (Photochemotherapie)
SC	Stratum Corneum
SD	Standardabweichung
SDT	Sorption- Desorption Test
SLS	Sodium Lauryl Sulfate (dt. Natriumlaurylsulfat)
SS _{bt}	Mittelwertsunterschied zwischen den Gruppen
SS _{wt}	Varianz innerhalb der Gruppen
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust
TM	Tewameter
TS	Tape stripping
UV	Ultraviolettstrahlung
vs	versus
z.B.	zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	I
1. Zusammenfassung	1
2. Einleitung	3
2.1 Grundlagen der Hautphysiologie	3
2.1.1 Aufbau der Haut	3
2.1.2 Charakteristik der Hautfarbe	5
2.1.3 Anpassung der Haut auf innere und äußere Reize	6
2.2 Grundlagen der Farbenlehre	7
2.2.1 Das Licht	7
2.2.2 Subtraktive Farbmischung	9
2.2.3 Additive Farbmischung	10
2.2.4 Das Farbensehen	10
2.2.5 Der Farbraum	12
2.2.6 Methoden der Farbmessung	16
2.3 Zielstellung	18
3. Materialien und Methoden	20
3.1 Geräte	20
3.1.1 Richtlinien der Messverfahren	20
3.1.2 Mexameter	21
3.1.3 Dermaspectropen	24
3.1.4 Chromameter 200 und 300	25
3.1.5 Colorimeter	26
3.1.6 Tewameter TM 300	28
3.1.7 Corneometer CM 825	29
3.2 <i>in vitro</i> - Untersuchung	30
3.2.1 Farbtafeln (Courage & Khazaka)	30
3.3. <i>in vivo</i> - Untersuchung	31
3.3.1 Probanden	31
3.3.2 Atopiescore	33
3.3.3 Klinische Beurteilung mittels adaptierten Irritationsscore	34
3.3.4 Auslösen einer Hautirritation durch Tapestripping	35
3.3.5 Hautirritation durch Natriumlaurylsulfat	36

3.3.6 Barrierefunktion des Stratum Corneum und TEWL	37
3.3.7 Hydratation des Stratum Corneum	41
3.4 Studiendurchführung	42
3.4.1 <i>in vitro</i> - Teil	42
3.4.2 <i>in vivo</i> - Teil	43
3.5 Statistische Methoden	45
4. Ergebnisse	47
4.1 <i>in vitro</i> – Studie	47
4.1.1 Erfassung des Rotanteils ausgewählter Farben	47
4.1.2 Erfassung der Helligkeit ausgewählter Farben	54
4.2 <i>in vivo</i> – Studie	60
4.2.1 Probanden	60
4.2.2 Raumbedingungen	61
4.2.3 Irritationsscore	61
4.2.4 Basismessungen	63
4.2.5 Induktion der Hautrötung durch Tapestripping	64
4.2.6 Provokation der Hautirritation durch SLS	69
4.2.7 Einfluss von H ₂ O unter Okklusion auf Pigmentierung und Erythem	70
4.2.8 Vergleich der Testfelder nach vier Stunden	71
4.3 Vergleich der Messgenauigkeit der Farbmessgeräte im Helligkeits- und Erythembereich der menschlichen Haut	73
5. Diskussion	76
5.1 <i>in vitro</i> - Untersuchung	76
5.2 Probanden	77
5.3 Irritation mit SLS 2% unter Okklusion	77
5.4 Irritation mit TS	79
5.5 Einfluss von H ₂ O unter Okklusion	80
5.6 Vergleich der Ergebnisse <i>in vivo</i> und <i>in vitro</i>	81
5.7 Fehlerquellen	83
5.8 Schlussfolgerung	84
Abbildungsverzeichnis/ Tabellenverzeichnis	86
6. Literaturverzeichnis	91
7. Anhang	96

1. Zusammenfassung

Die Haut ist das größte Organ unseres Körpers und bildet aufgrund ihres spezifischen Aufbaus eine wichtige Barriere des Organismus gegenüber der Umwelt. Diese Barriere kann jedoch durch verschiedene Reize geschädigt werden, was zu Veränderungen im Aufbau, z. B. durch Abtragung oberster Zellschichten, sowie Änderungen von hautphysiologischen Parametern führt. Diese Parameter sind unter anderem der transepidermale Wasserverlust (TEWL), der Wassergehalt im Stratum Corneum, die Hautdurchblutung und die Pigmentierung der Haut. In der vorliegenden Dissertation wurden die Veränderungen der eben genannten Parameter nach Einfluss exogener Reize mit Hilfe verschiedener Messgeräte untersucht. Ziel war es, die Haut mechanisch mittels Tapestripping, sowie chemisch durch Einwirkung von Natriumlaurylsulfat (engl. Sodium Lauryl Sulfate, SLS) und Wasser unter Okklusion zu reizen, um anschließend herauszufinden, ob eine erfolgte milde Irritation in einer Veränderung der Hautrötung und – pigmentierung resultiert und mit welcher Sensitivität diese Farbveränderungen durch die einzelnen Farbmessgeräte erfasst wurden. Zum Einsatz kamen das Mexameter MX18 (Fa. Courage & Khazaka), die Chromameter 200 und 300 (Fa. Minolta), der DermaSpectropen (Fa. Lange GmbH) und das Colorimeter (Fa. Courage & Khazaka).

Diese Farbmessgeräte wurden zuerst an 31 Farbfeldern zweier standardisierter Farbtafeln in einer *in vitro*- Untersuchung getestet und anschließend bezüglich ihrer relativen Standardabweichung miteinander verglichen. Insgesamt zeigten die Messwerte aller Geräte niedrige Standardabweichungen von < 10%. Vor allem bei Farben, die dem Spektrum der Haut ähneln, zeigten sich Standardabweichungen im Bereich von 0,02% bis 0,4% für die Messwerte aller Farbmessgeräte.

Die Messungen der *in vivo*- Untersuchung erfolgten an 20 hautgesunden männlichen und weiblichen Probanden im Alter von 18 bis 50 Jahren, mit einem Hauttyp II bis III nach Fitzpatrick. Es wurden drei Testfelder auf der Unterarminnenseite beider Arme festgelegt, auf denen jeweils eine milde Irritation mittels Tapestripping, SLS 2% und Wasser unter Okklusion stattfand. Als Referenz für eine bestehende intakte Barrierefunktion diente ein unbehandeltes Kontrollfeld.

Eine Schädigung der Barrierefunktion mit resultierender Zunahme des TEWL, sowie eine Veränderung der Kapazität konnte auf jedem Testfeld nach erfolgter Hautirritation mit Hilfe

des Tewameters TM 300 (Fa. Courage & Khazaka) und des Corneometers CM 825 (Fa. Courage & Khazaka) festgestellt werden. Zudem erfolgte eine klinische Beurteilung mittels Irritationsscore, erfasst durch einen trainierten Beobachter.

Eine Veränderung der Pigmentierung nach milder Irritation mit SLS konnte durch alle Farbmessgeräte signifikant erfasst werden, Unterschiede in der Rötung wurden vom Mexameter, dem Spectropen und den Chromametern 200 und 300 signifikant gemessen. Allein das Colorimeter konnte diese Änderung der Hautrötung nicht signifikant aufzeigen. Die Reizung mittels Tapestripping zeigte eine weniger deutliche Veränderung in der Hautrötung. Direkt nach der Irritation vermochte nur das Colorimeter eine signifikante Veränderung im Vergleich zum Basiswert aufzuzeigen und bei erneuter Messung nach vier Stunden konnte keines der Farbmessgeräte einen signifikanten Unterschied erfassen.

In Bezug auf die Pigmentierung wurde eine signifikante Änderung unmittelbar nach Tapestripping im Vergleich zur Basismessung von den Messgeräten Mexameter, Spectropen, Chromameter 200 und 300 erfasst. Diese Abnahme der Pigmentierung konnte auch noch nach vier Stunden von den gleichen Farbmessgeräten aufgezeigt werden. Für das Colorimeter bestand keine signifikante Veränderung der Werte für die Helligkeit nach Tapestripping.

Eine Veränderung der Hautrötung und – pigmentierung nach Barrierschädigung mit Wasser unter Okklusion war zu vernachlässigen.

Im Vergleich *in vitro* und *in vivo* konnte gezeigt werden, dass die Farbmessgeräte geringe relative Standardabweichungen bei Farben aufzeigen, die dem Spektrum der menschlichen Haut ähneln, was eine optimale Voraussetzung für den Einsatz dieser Geräte in *in vivo*-Studien darstellt. Eine Rangliste für die Farbmessgeräte bezüglich ihrer Messgenauigkeit konnte zudem erstellt werden. Am genauesten gelangen die Messungen mit dem Chromameter 200 und 300, gefolgt vom Mexameter und dem Colorimeter. Die geringste Sensitivität zeigte der Spectropen.

Weiterhin wurde deutlich, dass nicht jede Form der Kurzzeitirritation der Haut mit Barrierschädigung auch in einer Veränderung der Rötung und Pigmentierung der Haut resultiert, weshalb die Farbmessgeräte andere Messverfahren, wie die Beurteilung des Irritationsscores durch einen trainierten Beobachter und die Erfassung des TEWL und der Kapazität nicht ersetzen, wohl aber unterstützen können.

2. Einleitung

2.1 Grundlagen der Hautphysiologie

Die Haut ist das größte Organ unseres Körpers und grenzt den Organismus gegen die Umwelt ab. Sie trägt damit eine wichtige Schutzfunktion gegen verschiedene äußere Reize. Um ein besseres Verständnis für die einzelnen Funktionen zu erhalten, sei hier kurz der Aufbau der Haut erläutert. Da sich die Studie auf Messungen an der behaarten Haut beschränken, bezieht sich der Abschnitt auch nur auf diese.

Im weitesten Sinne besteht die Haut aus 3 Schichten, der Epidermis, der Dermis oder Corium und der Hypodermis oder auch Subkutis genannt, wobei sich Epidermis und Dermis auch zur Cutis zusammenfassen lassen.

2.1.1 Der Aufbau der Haut

Die Epidermis

Die Epidermis entwickelt sich in der Embryonalphase aus dem Oberflächenektoderm und setzt sich aus 5 Schichten zusammen. Sie bildet mit der Hornschicht, welche durch Zellen der darunter liegenden Zellreihen immer wieder regeneriert wird, die äußerste Barriere der Haut. Neben diesem mechanischen Schutz nimmt die Epidermis durch die in ihr enthaltenen Melanozyten und Langerhans-Zellen zusätzlich eine Schutzfunktion gegen Strahlen und Infektionen ein. Melanozyten bilden den strahlenabsorbierenden braunen Farbstoff Melanin, dessen Bildung durch den Einfluss von ultravioletten, aber auch anderen kurzwelligen Strahlen, wie Röntgen- oder Gammastrahlen ausgelöst wird (Deetjen und Speckmann 2005). Mit einem speziellen Messverfahren kann man den Melaningehalt der Haut in einem bestimmten Areal messen und dadurch Rückschlüsse auf eine entsprechende Adaptation ziehen. So zeigte sich in Studien, dass eine stärkere Pigmentierung zu einem Schutz der Haut

gegen UV-Strahlen führt und sie zudem auch weniger angreifbar für irritierende Substanzen wie z.B. Natriumlaurylsulfat macht (Serup et al. 2006). Auf das entsprechende Messverfahren wird zu einem späteren Zeitpunkt bei der Beschreibung der einzelnen Verfahren, die in der durchgeführten Farbstudie zum Einsatz kamen, eingegangen. Die Langerhans-Zellen sind Zellen des Immunsystems und stellen neben dem Säuremantel der Haut durch ihre phagozytierenden Eigenschaft einen wichtigen Baustein der unspezifischen Abwehr des Organismus dar (Deetjen und Speckmann 2005).

Die Dermis

An ihr können zwei Schichten unterschieden werden. In die Epidermis ragend beinhaltet die Papillarschicht neben Gefäßen zahlreiche Mechano- und Thermorezeptoren. Die Merkel-Tastscheiben und die Haarfollikelrezeptoren sind neben freien Nervenendigungen für die Thermorezeption die einzigen Rezeptoren der behaarten Haut. An der Grenze zur Subkutis befinden sich außerdem die Schweißdrüsen, welche im Rahmen der Thermoregulation, aber auch bei emotionalen Reizen, die zu einer Sympathikusaktivierung führen, ein saures Sekret produzieren und dieses über Ausführungsgänge an die Hautoberfläche abgeben. Durch aufsteigende bzw. absteigende Gefäße aus der Subcutis bilden sich jeweils ein arterielles und ein venöses Gefäßnetz innerhalb der Dermis. Weiterhin zeichnet sie sich durch zugfeste und elastische Fasern aus, welche für ein bestimmtes Maß an Dehnung und Rückstellung verantwortlich sind (Lippert 1996, Schmidt und Thews 2005).

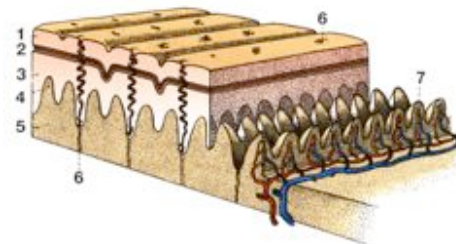


Abb. 1: Aufbau der Haut (Lippert 1996)

Legende:

- 1: Stratum corneum
- 2: Stratum lucidum
- 3: Stratum granulosum – S. basale
- 4: Stratum papillare
- 5: Stratum reticulare
- 6: Ausgang ekriner Schweißdrüse
- 7: Kapillarschlingen

Die Subcutis

Sie besteht hauptsächlich aus Fett - und Bindegewebe und dient als Halterung der Cutis an der Körperfaszie. In ihr verlaufen größere Gefäße mit Abzweigungen in die Dermis. Durch das Unterhautfettgewebe kommt es zu einer Isolation gegen Wärmeverluste und einem mechanischen Schutz der inneren Organe gegen Druck und Stoß.

Weiterhin liegt hier der Haarbulbus, die Wachstumszone des Haares. In ihn hinein ragt der Haarfollikel, welcher aus der Dermis gebildet wird und sich röhrenförmig um die Haarwurzel windet (Lippert 1996, Kühnel 1992, Deetjen und Speckmann 2005).

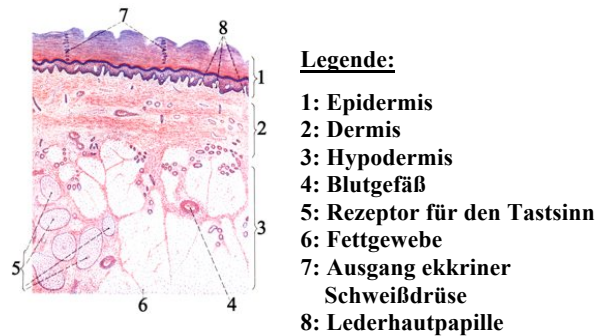


Abb. 2 : Histologischer Hautschnitt (Lippert 1996)

2.1.2 Charakteristik der Hautfarbe

In den einzelnen Schichten der Haut befinden sich verschiedene endogene Chromophore, welche die individuelle Hautfarbe des Menschen ausmachen. Sie führen durch Absorption, Reflexion und Streuung des einfallenden Lichtes zur Herausbildung des spezifischen Hauttons. Je größer dabei die Wellenlängen sind, desto tiefer dringen sie in die Hautschichten ein. Bereits auf der Hautoberfläche kommt es zur Reflexion und Streuung von Lichtstrahlen, was vor allem durch sich ablösende Zellen der Hornschicht bedingt ist. Eine vermehrte Hautschuppung bewirkt eine stärkere Reflexion des einfallenden Lichtes und dadurch wirkt die Haut heller bzw. weiß an dieser Stelle. In den tieferen Schichten führt vor allem eine Reflexion des Lichtes durch Kollagenfasern zu einer weißeren Farbe der Haut. Auch Wasser, welches sich in den Gefäßen, im Interstitium und in den Zellen befindet, reflektiert den Großteil der einfallenden Lichtstrahlen und gibt der Haut einen helleren Farbton. Zudem bewirken subkutane Ödeme eine Komprimierung der Hautgefäße, was einen ähnlichen Effekt auf die Hautfarbe hat. In der Epidermis befindet sich der für die Entstehung der Hautfarbe

wichtigste Farbstoff, das Melanin. Vom Melanin gibt es zwei verschiedene Formen, das braun-schwarze Eumelanin, welches in Konzentration und Farbgebung dominiert, und das rot-gelbe Phäomelanin, welches vor allem bei helleren Hauttypen den Hautton bestimmt. Weiterhin befinden sich in der Epidermis Karotinoide mit gelblichem Farbanteil.

In der Dermis erfolgt die Absorption des einfallenden Lichtes neben dem Wasser vorrangig durch das oxygenierte Hämoglobin (Hellrot), das desoxygenierte Hämoglobin (Dunkelrot-bläulich) und das Bilirubin (Gelb) des Gefäßsystems. Eine Dilatation der Gefäße führt zu einem vermehrten Blutfluss und Vergrößerung der Fläche des Gefäßnetzes, was in einer sichtbaren Zunahme der Hautrötung resultiert (Matts et al. 2007, Mahmoud et al. 2008).

Die Veränderung der Anteile der epidermalen und dermalen Chromophore lässt somit Rückschlüsse auf verschiedene Adaptationsprozesse auf exogene Noxen, wie vermehrte Sonneneinstrahlung und Behandlung mit Medikamenten, sowie endogene Veränderungen aufgrund von Krankheitsverläufen zu. Diese Veränderungen lassen sich visuell, sowie mittels verschiedener Farbmessverfahren erfassen, was in den Untersuchungen, welche die Basis für diese Dissertation bildeten, aufgezeigt werden sollte.

2.1.3 Anpassung der Haut auf innere und äußere Reize

Durch den Einfluss verschiedener innerer und äußerer Reize kann die Haut viele Regelmechanismen aktivieren, um den Organismus vor diesen Reizen zu schützen. Eine umgebende Lufttemperatur von etwa 25-30°C und eine Luftfeuchte von circa 50% stellt für einen gesunden, ruhenden und unbedeckten Menschen die Neutralzone oder auch Indifferenztemperatur dar. Abweichungen dieser klimatischen Bedingungen führen über komplexe Regelmechanismen zu einer Vasokonstriktion bzw. zu einer Dilatation der Gefäße (Schmidt und Thews 2005).

So wie der Sympathikus bei der Temperaturregulation aktiviert wird, reagiert er auch auf emotionale Reize, was sich auch an Veränderungen an der Haut verdeutlichen lässt. Durch die Aktivierungsreaktion steigt nicht nur die Herzfrequenz, sondern auch die Schweißdrüsenaktivität wird gesteigert und die Hautdurchblutung wird, bedingt durch die

Vasokonstriktion, gedrosselt. Diese Anpassung lässt sich an Veränderungen des Hautleitwertes sofort erkennen.

Bei Schädigung der Haut durch mechanische oder chemische Reize wird die unspezifische Abwehr des Immunsystems aktiviert, was durch Ausschüttung von Entzündungsmediatoren und Aktivierung von Nozizeptoren geschieht und welche weiterhin über zentrale Mechanismen eine Vasodilatation und damit gesteigerte Hautdurchblutung induzieren. Die Bildung von Hautödemen wiederum führt zu einer Vasokonstriktion und lässt die Haut somit blasser erscheinen. Die Funktion der Melanozyten wurde im vorherigen Abschnitt bereits erläutert. Auch sie bilden einen effektiven Schutz des Organismus gegenüber der Umwelt (Deetjen und Speckmann 2005, Golenhofen 2000).

2.2 Grundlagen der Farbenlehre

2.2.1 Das Licht

Um das Wesen der Farbe erklären zu können, ist es wichtig, sich vorerst mit der Natur des Lichts auseinander zu setzen, um anschließend mit Hilfe der Grundlagen des menschlichen visuellen Systems ein komplexes Verständnis für das Phänomen Farbe zu erhalten.

Die Aussage „Farben sind Taten des Lichts.“ von Johann Wolfgang von Goethe zeigt, dass auch er sich bereits intensiv mit der Natur der Farbe beschäftigte und kam ihr, ohne um ihre physikalische Ursache zu wissen, mit diesem Ausspruch schon recht nahe.

1864 kombinierte Maxwell die Wellentheorie von Hooke und Huygens mit der Korpuskulartheorie von Newton und vertrat die Auffassung, dass Licht durch elektromagnetische Wellen entsteht, die sich in Wellenlänge und Frequenz unterscheiden. Hertz bewies diese Theorie in einem Versuch und erarbeitete die Darstellung eines elektromagnetischen Spektrums (Wilson und Hawkes 1989). Der Begriff „Licht“ bezieht sich dabei auf Wellenlängen in einem sehr schmalen sichtbaren Spektralbereich von etwa 400 nm bis etwa 800 nm, doch auch die kurzwelligeren Röntgen- und Gammastrahlung und die

langwelligen Radiowellen zählen wie das Licht zum Spektrum der elektromagnetischen Wellen (Harten 2001).

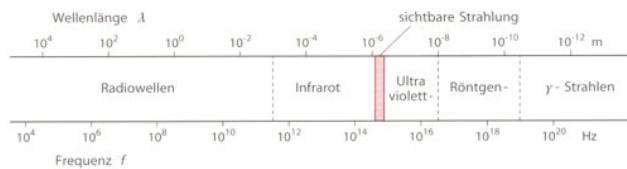


Abb. 3 : Spektrum elektromagnetischer Wellen (Harten 2001)

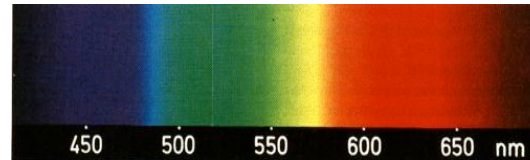


Abb. 4 : Farbspektrum des sichtbaren Lichts (Harten 2001)

Der Grossteil der Körper in unserer Umgebung vermag das Licht, welches auf sie fällt, durch Reflexion, Brechung und Absorption zu beeinflussen. Mit Hilfe des Prismas lässt sich die Eigenschaft der Brechung verdeutlichen, denn dadurch wird das Licht in alle Anteile des sichtbaren Spektrums gespalten und man erkennt blaue, grüne, orange, gelbe, rote und sogar die im Spektralbereich nicht enthaltenen purpurnen und violetten Farben (Schultze 1957). Die meisten Körper in unserer Umgebung zeichnen sich durch Absorption unterschiedlicher Wellenlängen aus, was ihnen eine spezielle, für uns erkennbare Farbe verleiht. Sie besitzen also ein bestimmtes Absorptionsspektrum, welches für sie spezifisch ist und wodurch sie identifiziert werden können. Diese Eigenschaft macht man sich vor allem in medizinischen Laboratorien zu nutze, mit deren Hilfe sich Konzentrationen von verschiedenen Stoffen, z.B. Hämoglobin im Blut oder auch Harnstoff und Bilirubin im Serum bestimmen lassen (Harten 2001).

Ein weißer Körper absorbiert wenig Licht, ein schwarzes Objekt dagegen sehr viel. Das Chlorophyll der Grünpflanzen absorbiert vor allem Wellenlängen, die kleiner als etwa 500 nm und größer als etwa 560 nm sind, so dass die Wellenlängen im grünen Spektralbereich reflektiert und somit sichtbar gemacht werden. Wichtig ist dabei aber zusätzlich, dass die zurückgeworfene Farbe von der Lichtart des selbstleuchtenden Körpers, z. B. der Sonne oder einer Leuchtstoffröhre, und der Beschaffenheit des beleuchteten Objekts abhängt.

Das folgende Beispiel soll auf eine weitere Eigenschaft aufmerksam machen: Wenn weißes Licht, also Licht bestehend aus allen Wellenlängen des sichtbaren Spektrums, auf einen

gelben Gegenstand fällt, so werden die violetten und blauen Spektralbereiche fast vollständig absorbiert, wogegen die grünen, gelben, orangefarbenen und roten vorrangig reflektiert werden. Trotz der Vielfalt an reflektierten Strahlen erscheint der Gegenstand gelb, was zum einen zeigt, dass man nicht genau sagen kann, aus welchen Spektralbereichen sich eine Farbe zusammensetzt, zum anderen aber auch verdeutlicht, dass sich Farben aus anderen Farben aufbauen können (Schultze 1957). Diese Feststellung soll einleitend sein für einen weiteren wichtigen Bereich der Farbenlehre, nämlich der additiven und subtraktiven Farbmischung.

2.2.2 Subtraktive Farbmischung

Subtraktive Farbmischung entsteht, wenn man Malerfarben mischt, da dort die Farbpigmente das eintreffende Licht teilweise reflektieren und zum Teil absorbieren. Ein gelber Körper absorbiert zum Beispiel kurzwelliges Licht und reflektiert die mittel- und langwelligen Anteile. Mischt man blaue, grüne und rote Farbanteile, so erhält man ein dunkles Braun, da der Großteil der Wellenlängen absorbiert und nur ein geringer Teil reflektiert wird (Schmidt und Thews 2005, Deetjen und Speckmann 2005).

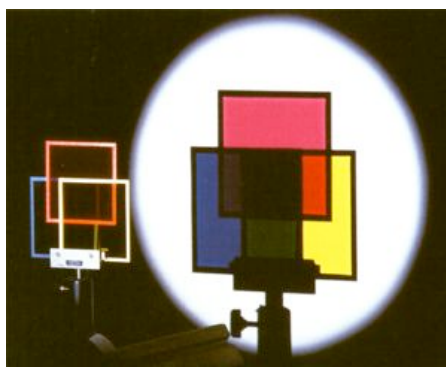


Abb. 5 : Subtraktive Farbmischung auf einer Leinwand mit Hilfe dreier Farbfilter (Harten 2001)

2.2.3 Additive Farbmischung

Es gibt im sichtbaren Farbspektrum die drei Primärfarben Rot (700 nm), Grün (546 nm) und Blau (435 nm), aus denen sich alle anderen Farben mischen lassen.

Bei der additiven Farbmischung ergibt sich aus der Verbindung der drei Farben Weiß, eine Mischung von roten und grünen Farbanteilen resultiert in der Farbe Gelb. Auf diese Art funktioniert die visuelle Verarbeitung der Reize, die auf die Retina treffen, aber auch beim Farbfernsehen werden die Eigenschaften der additiven Farbmischung genutzt (Deetjen und Speckmann 2005, Schmidt und Thews 2005).

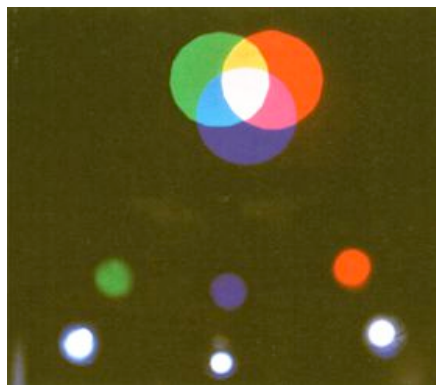


Abb. 6 : Additive Farbmischung auf einer Mattscheibe mit Hilfe von drei Projektoren und deren Farbfiltern (Harten 2001)

2.2.4 Das Farbsehen

Das Farbsehen wird am Auge durch Photorezeptoren ermöglicht. Sie befinden sich in der Schicht der Pigmentepithelzellen der Netzhaut, einem vorgeschobenen Teil des Gehirns, welcher durch Ausstülpung des Zwischenhirnbodens während der Embryonalentwicklung entstanden ist. Sie sind mit verschiedenen neuronalen Zellen verbunden, welche die eintreffenden Informationen an das Gehirn weiterleiten.

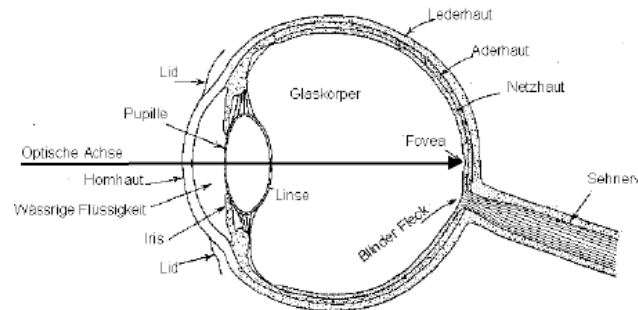


Abb. 7 : Schematische Darstellung des menschlichen Auges (Gall 2008)

Es gibt zwei Arten von Photorezeptoren - Stäbchen und Zapfen. Die Stäbchen sind mit einer Anzahl von 120 Millionen den Zapfen mit 6 Millionen zahlenmäßig weit überlegen, verdichten sich in Richtung Netzhautperipherie immer mehr und sind für das skotopische Sehen, also das Ausmachen von Helligkeitsunterschieden verantwortlich. In den Membranscheibchen der Stäbchen befindet sich der Sehfärbstoff Rhodopsin, welcher ein Absorptionsmaximum bei etwa 500 nm, also bei bläulich- grünem Licht hat.

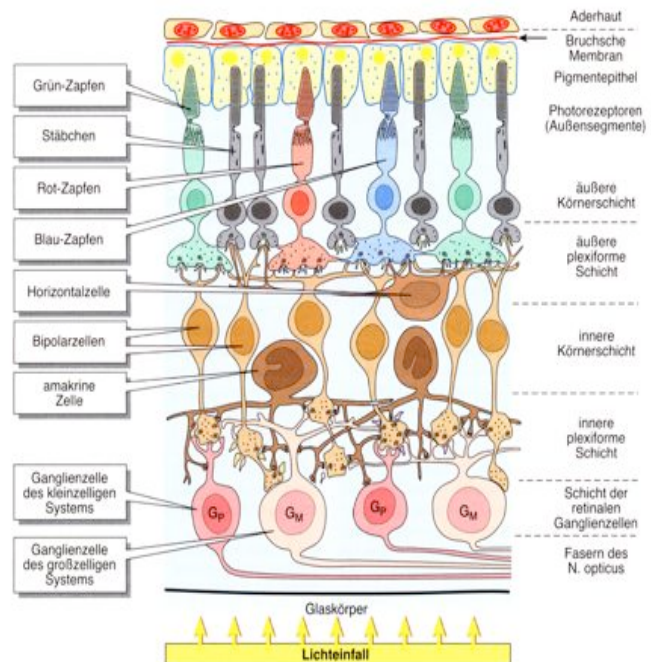


Abb. 8 : Aufbau der menschlichen Netzhaut (Golenhofen 2000)

Daher sprechen die Stäbchen bei Dämmerung am besten auf die Lichtreize an. Die Zapfen konzentrieren sich vor allem in der Fovea centralis, dem Punkt des schärfsten Sehens, und

sind für das photopische Sehen verantwortlich. Es gibt drei Arten von Zapfen, die in ihren Membrantaschen Jodopsine mit verschiedenen spektralen Absorptionsmaxima für Blau (440 nm), Grün (535 nm) und Rot (567 nm) besitzen, wobei jedoch immer nur ein Sehfärbstoff in einem bestimmten Zapfentyp vorkommt.

Bei Betrachtung eines Gegenstandes werden nun die entsprechenden Signale, die durch Lichteinfall auf die Netzhaut entstehen, über Transduktionsprozesse und elektrische Stimulation an die nachfolgenden Horizontal-, Bipolar- und amakrine Zellen der Retina weitergeleitet und gelangen so über Nervenbahnen in die visuellen Areale der Großhirnrinde. Dort entsteht durch komplexe Prozesse das Bild des betrachteten Gegenstandes. Durch geeignete Kombination von Erregungsstärken der drei Zapfentypen können alle Farbeindrücke ausgelöst werden (Bartels 2004, Deetjen und Speckmann 2005, Schmidt und Thews 2005).

Es gibt verschiedene Theorien, die sich mit der Signalverarbeitung des visuellen Systems auseinander setzen, von denen sich vor allem die Dreifarbentheorie von Helmholtz (1852) und Maxwell (1855) und die Gegenfarbentheorie von Hering durchgesetzt haben. Der erste Schritt der Signalverarbeitung wird durch die trichromatische Theorie erklärt, da drei verschiedene Zapfentypen mit Absorptionsmaxima bei Rot, Grün und Blau bei unterschiedlich starker Reizung und durch additive Farbmischung das gesamte sichtbare Spektrum abdecken (Schmidt und Thews 2005). Die weitere neuronale Verschaltung erfolgt mit Hilfe von Gegenfarbenneuronen, welche durch die Farbenpaare Rot-Grün, Blau-Gelb und Schwarz-Weiß dargestellt werden und durch antagonistische Prozesse miteinander kommunizieren (Richter 1981).

2.2.5 Der Farbraum

Eine Farbe besteht aus den drei Grundeigenschaften Farbton, Helligkeit und Sättigung. Doch obwohl man anhand dieser drei Attribute mittels geeigneter Adjektive eine Farbe beschreiben kann, werden 10 verschiedene Personen auch 10 unterschiedliche Beschreibungen für die gleiche Farbe finden.

Wie kann man ein Schema entwickeln, in dem alle Farben mit ihren Eigenschaften genau definiert sind?

Aus den drei Primärfarben Rot, Grün und Blau lassen sich alle anderen Farben durch additive Farbmischung realisieren. Anfang des 20. Jahrhunderts entwickelte der amerikanische Künstler Munsell auf dieser Grundlage ein System, in dem eine große Anzahl von Musterfarben nach Helligkeit (Value), Farbton (Hue) und Sättigung (Chroma) angeordnet waren. Es entstand der Munsell – Farbkörper.

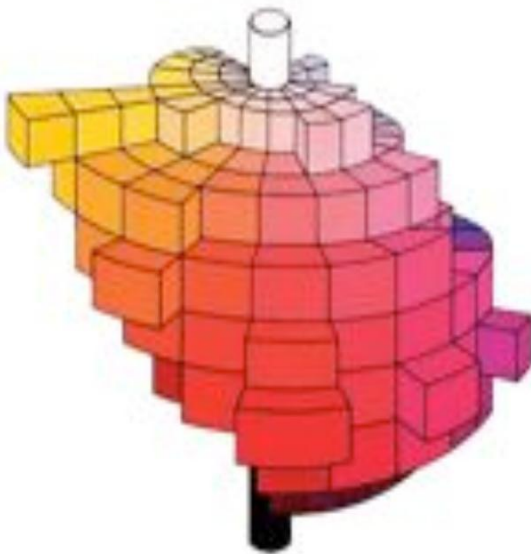


Abb. 9 : Ausschnitt des dreidimensionalen Farbkörpers nach Munsell (Minolta 1996)

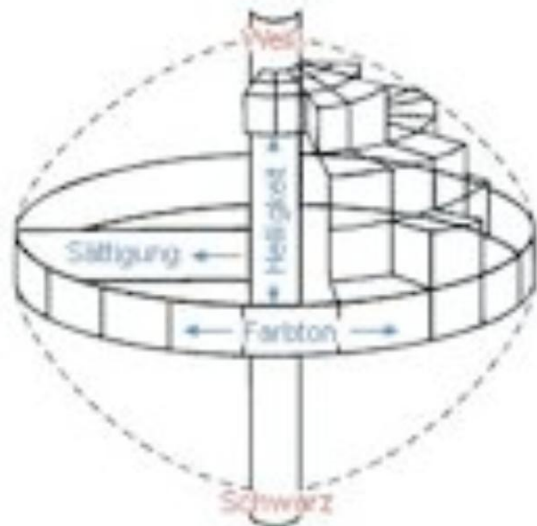


Abb. 10 : Dreidimensionaler Farbkörper aus Farbton, Helligkeit und Sättigung (Minolta 1996)

Die Voraussetzung, dass sich alle Farben aus den drei Grundfarben Rot, Grün und Blau erzeugen lassen, machte sich auch die Internationale Beleuchtungskommission CIE (Commission Internationale de l'Eclairage) 1931 im international allgemein anerkannten CIE-Systems zunutze. Das Grundprinzip besteht darin, eine zu kennzeichnende Farbe durch Regulierung der Intensitäten der drei Grundfarben nachzuahmen. Da jedoch dadurch gerade die hochgesättigten Spektralfarben nicht darstellbar sind, muss man sich eines anderen Mittels bedienen. Man stellt zunächst eine zu bewertende Farbe anhand von zwei Grundfarben dar

und fügt dann der zu bewertenden Farbe die Dritte hinzu. Letztere wird also negativ zugemischt, wodurch alle Spektralfarben darstellbar werden. Um negative Werte bei der Berechnung aber zu umgehen, werden die Grundfarben auf drei „virtuelle“ Normvalenzen umgerechnet.

So entsteht das Farbdreieck mit den drei Farbwerten x , y und z , wobei die Formel gilt:

$$x + y + z = 1$$

Auf der Verbindungslinie zwischen zwei Farben liegt die entsprechende Mischfarbe, wobei sich die Farben zur Mitte hin dem Weißpunkt nähern, also in ihrer Sättigung abnehmen. Eine Ausnahme bildet die Purpurgerade, welche die Verbindungslinie zwischen den beiden Enden des sichtbaren Spektrums darstellt. Im Weißpunkt gilt die Formel:

$$x = y = z = 0,33$$

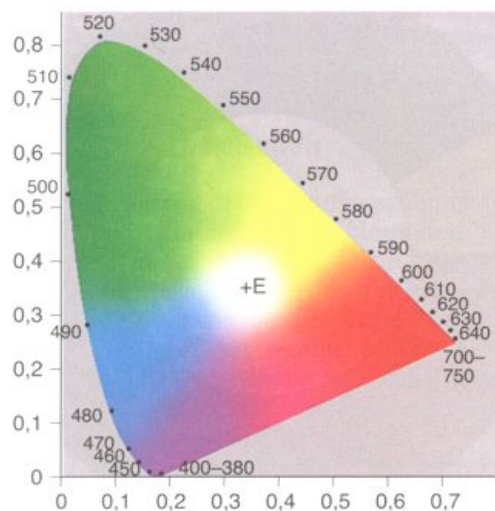


Abb. 11: Normfarbtafel nach DIN 5033 mit E= Weißpunkt (Golenhofen 2000)

Anhand dieses Farbdreiecks sind allerdings nur Farbton und Sättigung definiert. Um ein Maß für die Helligkeit anzugeben, ist ein weiterer Vektor Y erforderlich, welcher aus dem Farbdreieck einen dreidimensionalen Farbkörper entstehen lässt.

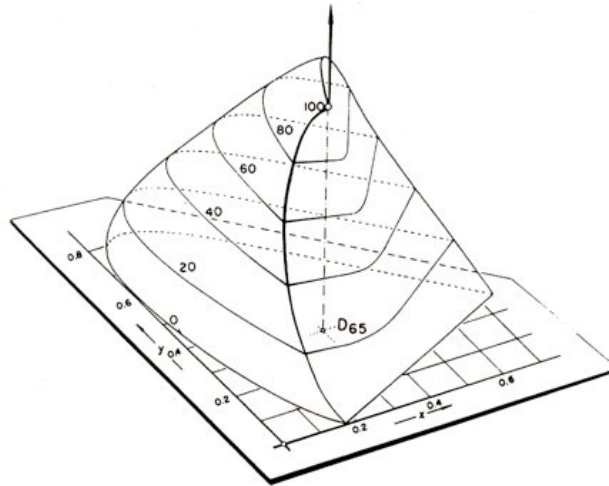


Abb. 12 : Dreidimensionale Darstellung des Yxy-Farbsystems (Kuehni 1997)

Mit Hilfe dieses Systems lassen sich alle Spektralfarben exakt berechnen. 1976 definierte die CIE das heute noch gebräuchlichste CIE- Lab- Farbsystem, bei dem die primären Farbwerte x, y und z einer nichtlinearen Transformation unterzogen wurden (Minolta 1996, Richter 1981). Die neuen Koordinaten werden von L^* , a^* und b^* gebildet und stellen ebenfalls ein dreidimensionales Koordinatensystem dar.

Auf der L^* - Achse ist die Helligkeit definiert, bei der ein Wert von $L^* = 0$ Schwarz darstellt und der Wert $L^* = 100$ Weiß ergibt. Die Achsen a^* und b^* stehen für Farbton und Sättigung, wobei a^* die Bereiche Rot- Grün und b^* das Spektrum Blau – Gelb abdeckt. Die Sättigung ergibt sich aus dem Abstand zum Koordinatenursprung.

Mit Hilfe dieses Farbsystems lassen sich auch minimale Unterschiede zwischen zwei Farben anhand numerischer Werte darstellen. ΔE^*_{ab} gibt diese Farbdifferenz an, indem es die Werte der drei Vektoren für L, a und b mit einbezieht und wird mit folgender Formel berechnet:

$$\Delta E^*_{ab} = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (\text{Richter 1981})$$

Leider gibt es trotzdem Schwachstellen in Form von unterschiedlichen Wahrnehmungen von Farbdifferenzen, in Abhängigkeit vom Betrachter, Art der Lichtquelle und Beschaffenheit des Objekthintergrundes. Auch nach dieser Formel werden Farbunterschiede abhängig vom Bereich des Farbraums unterschiedlich stark bewertet, ein ΔE von 0,5 zum Beispiel wird bei

grauen Farben als großer Unterschied wahrgenommen und bei roten Farben kaum bemerkt (Gall 2008).

Daher ist es wichtig, sich bei klinischen Studien nicht nur auf die Ergebnisse der einzelnen Farbmessverfahren zu verlassen, sondern auch den Visual Score als Bewertungsmaßstab anzuwenden.

2.2.6 Methoden der Farbmessung

Bei der Farbmessung können prinzipiell drei Methoden unterschieden werden: das Gleichheitsverfahren, das Spektralverfahren und das Dreibereichsverfahren.

Das Gleichheitsverfahren

Durch additive oder subtraktive Mischung und Modellierung der Intensität genau festgelegter Farben wird eine Farbe erzeugt, die der zu prüfenden Farbe gleicht. Da individuelle Abweichungen zwischen den einzelnen Beobachtern und physiologische Veränderungen der Farbseheigenschaft des einzelnen Beobachters bei dieser visuellen Messung nicht zu vermeiden sind, wird diese Form der Farbmessung für exakte Bestimmungen heute nicht mehr verwendet (Gall 2008, Schultze 1957).

Das Spektralverfahren

Mit Hilfe des Spektralverfahrens kann die spektrale Charakteristik des Lichts gemessen und daraus können dann die Normfarbwerte berechnet werden. Neben der numerischen Darstellung der Ergebnisse ist weiterhin eine direkte grafische Darstellung der spektralen

Eigenschaften einer Farbe möglich. Ein Sensor mit verschiedenen Segmenten misst die spektrale Reflexionskurve einer Farbe für verschiedene Wellenlängen.

Das einfallende Licht wird mittels Monochromator oder schmalbandigen Farbfiltern in die einzelnen Wellenlängenbereiche zerlegt und ermöglicht so die Ermittlung der verschiedenen Remissionsgrade. Durch Einbeziehung von gespeicherten Daten für verschiedene Beleuchtungsarten wird daraus der entsprechende Datensatz gewonnen. 1931 wurden von der CIE folgende Spektralwertfunktionen für den Normalbeobachter festgelegt, die auf der Grundlage der Empfindlichkeit der drei Zapfenarten des Auges beruhen (Gall 2008, Minolta 1996):

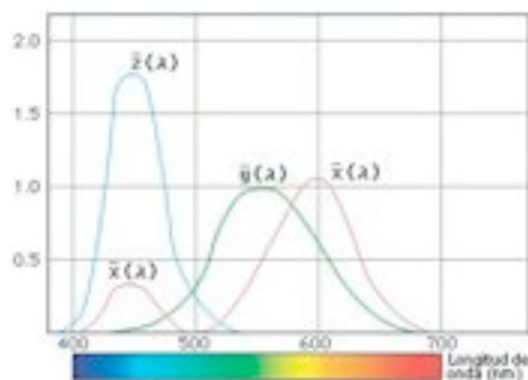


Abb. 13 : Spektralwertfunktionen für das menschliche Auge, festgelegt durch die CIE 1931 (Minolta 1996)

Das Dreibereichsverfahren

Das Dreibereichsverfahren beruht auf dem Prinzip der Farbverarbeitung im Auge. In einem Messgerät befinden sich drei Sensoren mit spektralen Empfindlichkeitsmaxima für Rot, Grün und Blau. Diese geben die empfangenen Signale an einen Mikrocomputer weiter, welcher die numerischen Ergebnisse daraus berechnet. Im Gegensatz zu den Spektralphotometern sind in den Geräten, die auf dem Prinzip des Dreibereichsverfahren basieren, die Daten von lediglich zwei Normlichtarten gespeichert, welche sich in ihrem spektralen Bereich ähneln. Daher stellt

das Phänomen der Metamerie ein Problem bei der Datenerfassung mittels Dreibereichsverfahren dar. Metamerie bedeutet, dass ein Objekt unterschiedliche spektrale Reflexionskurven abhängig von der Art der Lichtquelle aufweist. Spektralphotometer haben eine Vielzahl von spektralen Energieverteilungskurven verschiedener Normlichtarten gespeichert und können so Metamerie genau erfassen (Schultze 1957, Minolta 1996, Gall 2008).

2.3 Zielstellung

Lange Zeit waren es allein die menschlichen Sinne, die genutzt werden konnten, um Krankheiten zu erkennen und den Erfolg von Therapien im Verlauf zu beurteilen. Dabei spielte vor allem das Sehen eine bedeutende Rolle, denn viele Krankheiten und pathophysiologische Veränderungen im Körper drücken sich durch äußere farbliche Veränderungen, wie z.B. Rötung bei Neurodermitis, livide Verfärbung bei Unterkühlung oder Gelbfärbung der Haut und der Skleren bei ikterischen Erkrankungen aus. Durch die ständige Weiterentwicklung von Technologien verlässt sich der Mensch immer mehr auf Daten und Referenzwerte, die mit verschiedenen Farbmessgeräten erhoben wurden, und immer weniger auf seine Sinne.

Zielsetzung der Untersuchung ist es, Hauteffekte, die durch mechanische und chemische Irritation der Haut auftreten, mit Hilfe von Farbmessgeräten in quantitativen Einheiten darzustellen, um sie dadurch besser vergleichen zu können. Weiterhin soll eine Rangliste der fünf verwendeten Farbmessgeräte bezüglich ihrer Sensitivität für diese Hautirritationen erstellt werden. Zuvor wird mit Hilfe der Bestimmung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) und der Kapazität des Stratum Corneum die intakte Barrierefunktion der Haut und die Hornschichtfeuchtigkeit aufgezeigt. Anschließend erfolgt eine mechanische Hautirritation durch Klebefilmabrisse, sowie eine Reizung durch H₂O unter Okklusion und Natriumlaurylsulfat (SLS 2%) unter Okklusion, welche zuerst mittels klinischen Irritationsscores bezüglich Hautrötung, Rauigkeit, Schuppung, Ödembildung und Fissuren durch einen trainierten Beobachter beurteilt wird. Danach werden fünf Farbmessgeräte

getestet und anhand der Ergebnisse kann die Genauigkeit der Verfahren und das Ausmaß der Veränderung von Hautrötung und Pigmentierung individuell beurteilt werden. Zum Vergleich stehen die Chromameter 200 und 300, das Mexameter MX 18, der Spectropen und das Colorimeter.

Um eventuelle Variablen, wie z. B. Beschaffenheit der Hautoberfläche, psychische und hormonelle Einflüsse und Lichteinfall bei der *in vivo*- Untersuchung als Störgrößen herauszufiltern, werden Messungen mittels Mexameter, Spektrometer, Colorimeter, Chromameter 200 und 300 zuvor an genormten Farbtafeln der Firma Courage & Khasaka unter standardisierten Bedingungen vollzogen. Diese Messung ist grundlegend für die Beurteilung der Daten, die in der *in vivo*- Studie erfasst wurden. Folgende Fragestellungen ergeben sich daraus für die vorliegende Arbeit:

1. Gibt es eine sichtbare Veränderung der Hautrötung und der Pigmentierung nach mechanischer und chemischer Reizung und werden diese Unterschiede von den Farbmessgeräten erfasst?
2. Bestehen Unterschiede in der Messgenauigkeit zwischen den einzelnen Farbmessgeräten im Zusammenhang mit der Pigmentierung bzw. Rötung und der Art der Irritation?
3. Lässt sich die Messgenauigkeit der einzelnen Farbmessgeräte *in vitro* auch auf Messungen *in vivo* übertragen?
4. Erfassen sie Unterschiede noch eher als das menschliche Auge?

3. Materialien und Methoden

3.1 Geräte

Bei der Farbstudie fanden zum einen das Tewameter TM 300 und das Corneometer CM 825 Verwendung. Durch sie sollte eine gesunde Haut mit intakter Barrierefunktion zu Beginn der Studie, sowie das verwendete Modell der Hautreizung mittels dreier verschiedener Verfahren aufgezeigt werden. In der Hauptuntersuchung wurden anschließend Farbmessgeräte, die zur Bestimmung von Hautrötung und Pigmentierung eingesetzt werden, miteinander verglichen. Das Mexameter MX 18, der DermaSpectropen, die Chromameter 200 und 300 und das CK Color Probe Colorimeter fanden hierbei Verwendung. Eine ausführliche Beschreibung von Aufbau und Funktion dieser Farbmessgeräte erfolgt in den kommenden Abschnitten.

3.1.1 Richtlinien der Messverfahren

Die Durchführung der Farbmessungen, welche mit den Chromametern 200 und 300, dem Spectropen und dem Mexameter erfolgten, basiert auf den Untersuchungen von Fullerton et al. (1996) und Piérard (1998) bezüglich verschiedener Einflussgrößen, welche die Ergebnisse von Messungen beeinflussen können. Ähnliche Richtlinien wurden auch von Pinnagoda et al. (1990) und Rogiers et al. (2001) für die Messung des transepidermalen Wasserverlustes, und Berardesca (1997) für die Bestimmung der Hornschichtfeuchtigkeit erstellt.

Die dort beschriebenen Variablen beinhalten vor allem Unterschiede zwischen den einzelnen Testpersonen bezüglich Alter, Geschlecht und Hauttyp, unterschiedliche Bedingungen im Messraum, wie Temperatur, Beleuchtung und Luftfeuchte, sowie den Ablauf der Messung betreffende Variablen, wie Dauer der Messung und Druck der Messsonde auf das Testareal. Alter und Hauttyp der Probanden sollten vorab in Ein- und Ausschlusskriterien festgelegt

werden. Basierend auf der Untersuchung der oben genannten Störfaktoren wurden folgende Standards festgelegt:

Die Messungen sollten nicht unter direkter Sonneneinstrahlung, bei einer Raumtemperatur von 19 bis 23° C und einer relativen Luftfeuchte von 40 bis 60 % erfolgen. Mentaler Stress und der Einfluss von vasoaktiven Substanzen, wie Nikotin, Koffein und Steroide sollten vermieden werden. Das Messareal sollte genau definiert, gekennzeichnet und für mindestens 30 Minuten nicht bedeckt sein. Haare können die Messungen beeinflussen, so dass, wenn möglich, ein Hautareal mit geringer Behaarung gewählt werden sollte. Zudem wird der Einfluss einer orthostatischen Reaktion durch horizontale Lagerung des entsprechenden Areals ausgeschlossen. Wenn die Haut mit Medikamenten behandelt, oder chemisch bzw. mechanisch gereizt wird, ist es wichtig, ein Kontrollfeld als Referenz zu markieren.

In Bezug auf die Instrumente ist eine Kalibrierung vor Messbeginn zu erfolgen, die Instrumente sollten vertikal und ohne starken Druck auf das Messfeld aufgesetzt und Messungen zügig durchgeführt werden. Es sollten immer drei Messungen auf einem Messareal erfolgen, deren Mittelwert in die Berechnung der Ergebnisse eingeht.

3.1.2 Mexameter

Zur Messung der Intensität von Erythem (Rötung) und Pigmentierung wurde das Mexameter MX 18 (Fa. Courage & Khazaka, Köln) entsprechend der geltenden Richtlinien verwendet (Fullerton et al. 1996, Pierard 1998).

Die Tatsache, dass die einzelnen biologischen Strukturen unseres Körpers Licht verschiedener Wellenlängen in unterschiedlichem Maße absorbieren und reflektieren, macht man sich bei dieser Messeinheit zunutze. Die Rötung der Haut entsteht aufgrund der Erweiterung der Gefäßnetze und somit einer erhöhten Durchblutung dieses Hautareals. Das Oxyhämoglobin der Erythrozyten hat eine maximale Absorptionsrate bei einer Wellenlänge von 520 bis 580 nm, was dem grünen Spektralbereich entspricht, und reflektiert rotes Licht fast vollständig. Änderungen der Hautrötung bewirken demnach eine Veränderung in der Absorption von

grünem Licht, jedoch nicht des roten Spektrums. Aus dem Verhältnis des Ausmaßes an Reflexion von rotem und grünem Licht kann der Erythem- Index berechnet werden. Der Melanin- Index ergibt sich ebenfalls aus den Intensitäten von reflektiertem roten und grünen Licht, wobei sich hier das Ausmaß der Reflexion bei Änderung der Pigmentierung in beiden Wellenlängenbereichen verändert. Je stärker die Pigmentierung, um so größer die Absorptionsrate beider Spektralbereiche.

Der Sondenkopf des Mexameters hat eine Länge von 130 mm und einen Durchmesser von 24 mm und das beleuchtete Hautareal misst einen Durchmesser von 5 mm. Die digitale Sonde der Messeinheit beinhaltet Leuchtdioden, welche Wellenlängen von 568 nm, 660 nm und 880 nm aussenden, und einen Empfänger, welcher das von der Haut reflektierte Licht misst. Nur diffus reflektiertes und gestreutes Licht kann gemessen werden.

Um den Melaningehalt zu erfassen, wird die Absorption bei Wellenlängen von 660 nm und 880 nm berechnet. Bei der Erythem- Messung entspricht die Wellenlänge von 568 nm den Hauptabsorptionsspitzen des Hämoglobins. Eine weitere Wellenlänge von 660 nm wird zusätzlich ausgesendet, um andere Farbeinflüsse so weit wie möglich auszuschließen.

Die Messergebnisse werden simultan für Erythem und Melanin als Indices berechnet und auf dem Bildschirm mittels entsprechender Software angezeigt (Berardesca et al. 1995, Serup et al. 2006).



Abb. 14 : Mexameter MX 18 (Courage & Khazaka, Köln)

Die Messung der Pigmentierung der Testfelder mit Hilfe des Mexameters war eine wichtige Vorarbeit bei den *in vivo*- Untersuchungen, denn so konnte sichergestellt werden, dass alle

Messfelder eine vergleichbare Pigmentierung hatten, was als Ausgangswert für eventuelle Veränderungen während der Untersuchung diente.

Weiterhin konnte man so auch sichergehen, dass interindividuelle Bedingungen so standardisiert wie möglich gehalten wurden. Der Mittelwert der Basismessung des Melanidgehalts lag bei 124, wobei 16 von 20 Probanden auf allen Testfeldern einen Melaninwert > 100 hatten. Bei vier Probanden bewegte sich der Wert zwischen 60 und 100, was noch zu tolerieren war. Ein Einschlusskriterium war ein Maximalwert von 200 für den Melanidgehalt der Haut auf der Unterarminnenseite, um eine homogene Probandengruppe in Bezug auf den Hauttyp zu erhalten. Dieser Wert wurde bei keinem der Probanden überschritten. Diese Grenze wurde festgelegt, da sich in laborinternen Studien des Hautphysiologischen Labors der FSU Jena gezeigt hatte, dass höhere Werte mit inhomogenen Messergebnissen verbunden waren. Die Ein- und Ausschlusskriterien wurden im CRF festgehalten und können im Anhang nachgelesen werden. Da eine Homogenität der Basismesswerte Voraussetzung dafür sind, dass gleiche Messbedingungen bei allen Probanden zu Beginn der Untersuchung bestehen, wurden die Ergebnisse bereits in diesem Abschnitt besprochen.

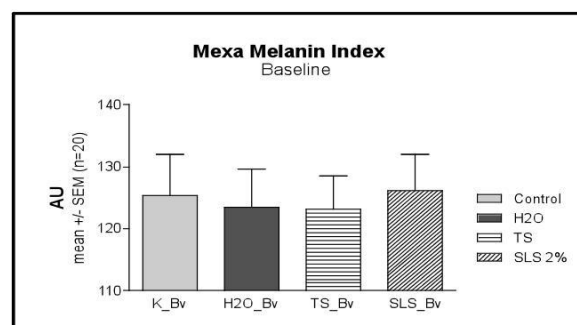


Abb. 15 : Basismesswerte der Bestimmung des Melanidgehalts mittels Mexameter MX 18 auf den drei Testfeldern H₂O, TS und SLS sowie auf dem Kontrollfeld K

3.1.3 Deraspectropen

Zur Messung der Intensität von Erythem und Pigmentierungsausprägung wurde der DermaSpectropen (Fa. Lange GmbH) entsprechend der geltenden Richtlinien verwendet (Fullerton et al. 1996, Pierard 1998). Das Prinzip der Messung basiert ebenfalls auf den Reflexions- und Absorptionseigenschaften der Haut und ihrer Strukturen. Das Messgerät hat eine Länge von 225 mm und einen Durchmesser von 55 mm, die Messöffnung der Sonde beträgt 6 mm im Durchmesser. Insgesamt 200 Messungen können gespeichert werden, die elektrische Versorgung erfolgt über Batterien.

Als Lichtquelle dienen zwei LED-Leuchten, welche Wellenlängen im grünen und roten Bereich ausstrahlen, eine blaue Silikonphotodiode dient als Empfänger. Das Licht dieser Leuchten wird von der zu messenden Oberfläche teils absorbiert und teils reflektiert.

Der Kontakt zwischen Oberfläche und Instrument erfolgt über ein Glasfenster, welches ummantelt ist, um ungewollte Reflexionen zu vermeiden. Der Spectropen vergleicht anschließend die Intensität von dem reflektierten roten und grünen Licht und berechnet einen Erythem-Index mit Hilfe eines Mikroprozessors. Anschließend kann der Wert auf dem Display ablesen werden (Lange 1998).



Abb. 16: DermaSpectropen (Fa. Lange GmbH Berlin)

3.1.4 Chromameter 200 und 300

Die Messung der Intensität von Erythem und Pigmentierung erfolgte weiterhin mit Hilfe der Chromameter 200 und 300 (Fa. Minolta, Osaka, Japan) entsprechend der geltenden Richtlinien (Fullerton et al. 1996, Pierard 1998). Sie arbeiten beide nach dem Prinzip des Dreibereichsverfahrens.

Die Ausmaße der Sonde betragen 229 x 91 x 60 mm, das beleuchtete Hautareal hat einen Durchmesser von 50 mm. Die Lichtquelle des Chromameters bildet eine Xenon Leuchtelektrode, die der CIE- Normlichtart D65 mit einer Farbtemperatur von circa 6400° Kelvin entspricht (CIE 1998, CIE 2004a, Serup et al. 2006) und Strahlen mit Wellenlängen des gesamten sichtbaren Strahlenspektrums aussendet. Um Schwankungen in der Beleuchtung des Objekts zu minimieren, wird ein Teil des Lichts zu einem Sensor gesandt, welcher dann über einen Mikroprozessor das vom Objekt reflektierte Licht bezüglich dieser Schwankungen kontrolliert. Durch das spezielle Kammerensystem wird der Gegenstand von allen Seiten beleuchtet, doch nur das Licht, welches senkrecht zum Objekt, bzw. parallel zur Achse der Sonde reflektiert wird, kann vom Gerät aufgenommen und verwertet werden.

In der Sonde befinden sich drei Photodioden mit einem Absorptionsmaximum bei 450 nm (blau), 550 nm (grün), und 610 nm (rot), welche auf diese Weise das Absorptionsspektrum des menschlichen Auges simulieren (Berardesca et al. 1995, Wilhelm et al. 1997). Die Standardisierung der Dioden erfolgte nach den Richtlinien der CIE (CIE 2004b). Die genauen Werte werden vom Gerät automatisch nach dem CIELAB- System mit Hilfe folgender Formeln berechnet:

$$\Delta a^* = a^*_1 - a^*_2 \text{ (gleiche Formel gilt für } b^* \text{ und } L^* \text{)}$$

$$\Delta E_{a^*b^*} = [\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}]^{1/2} \quad (\text{Minolta 1996})$$

Die Sonde hat eine Länge von 201 mm und einen Durchmesser von 60 mm und ist verbunden mit einer Kontrolleinheit, welche zur Kalibrierung der Sonde und zum Sichern und Drucken der Messergebnisse benötigt wird.

Anwendung fanden die Chromameter 200 und 300 bisher vor allem in experimentellen Studien zur Kontaktdermatitis, in denen die Haut mit verschiedenen Irritantien gereizt wurde

(Elsner et al. 2002, Fluhr et al. 2001), sowie bei der Betrachtung von Hautveränderungen unter dem Einfluss verschiedener pharmakologisch wirksamer Cremes und Salben (Schwarb et al. 1999, Vertuani et al. 2003, Wilhelm et al. 2001). Weiterhin wurden die Chromameter 200 und 300 in Studien verwendet, bei denen eine Veränderung der Hautpigmentierung unter PUVA Therapie, beziehungsweise die Unterteilung in verschiedene Hauttypen aufgrund unterschiedlicher Pigmentierungsausmaße beurteilt wurde (Park et al. 1999, Poon et al. 2003).



Abb. 17 : Chromameter 300 (Fa. Minolta) (Berardesca et al. 1995)

3.1.5 Colorimetrie

Als fünftes Farbmessgerät zur Bestimmung der Intensität von Erythem und Pigmentierung wurde das CK Color Probe Colorimeter (Fa. Courage & Khazaka) verwendet.

Im Aufbau und in der Funktion ähnelt das Colorimeter den Chromametern 200 und 300. Es besitzt ebenfalls drei Photodioden mit Absorptionsmaxima bei rotem, grünem und blauem Licht, sowie eine Leuchtelektrode, deren Licht im Bereich des roten Spektrums angepasst

wurde, um optimierte Bedingungen für die Farbmessung auf der Haut zu schaffen, was jedoch eine geringe Abweichung zur Normlichtart D65 darstellt. Die Länge des Sondenkopfes beträgt 126 mm und der Durchmesser 24 mm. Das beleuchtete Gebiet der Haut umfasst eine kreisförmige Fläche mit einem Durchmesser von ca. 17 mm.

Die Ergebnisse werden ebenfalls auf Grundlage des CIELAB Systems berechnet (Robertson 1977, Weatherall und Coombs 1992). Ein Unterschied besteht jedoch darin, dass die Eindringtiefe des Lichts der Chromametersonde größer ist als die des Colorimeters, was bedingt, dass der Rotanteil durch stärkere Reflexion in der Chromametrie höher erscheint. Da jedoch die CK Color Probe so kalibriert ist, dass sie die Farbe der Haut möglichst genau widerspiegelt, ist dieser Unterschied zu vernachlässigen.

Das Colorimeter wird erst seit kurzer Zeit in laborinternen Studien des Hautphysiologischen Labors der FSU Jena verwendet, weshalb die Erfahrungen in Bezug auf die Genauigkeit der Messungen sehr gering sind. Diese Farbstudie bietet daher die Möglichkeit, dieses Farbmessgerät mit einigen bewährten Farbmessgeräten bezüglich der Messgenauigkeit und der signifikanten Wiedergabe von Messunterschieden nach verschiedenen Arten der Hautreizung zu vergleichen.

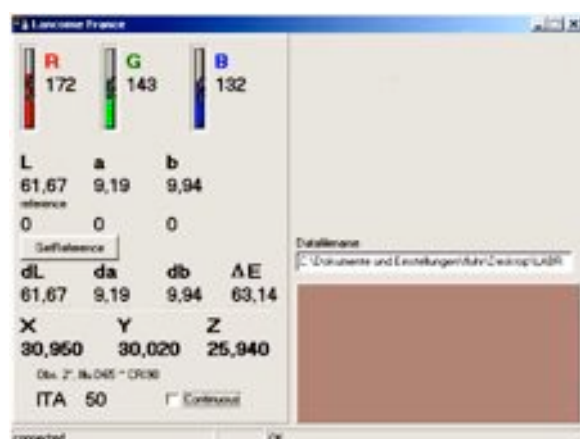


Abb. 18 : Anwendung der Colorimeter Sonde (links) mit digitaler Verarbeitung durch entsprechende Software (oben)

3.1.6 Tewameter TM 300

Zur Messung des Transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) in der *in vivo*- Untersuchung wurde das Tewameter TM 300 (Fa. Courage & Khazaka, Köln) entsprechend der geltenden Richtlinien verwendet (Miteva et al. 2006, Pinnagoda et al. 1990, Rogiers und Group 2001).

Aufbau und Funktion der Sonde basieren auf dem Wissen um das Fick'sche Diffusionsgesetz (Schmidt und Thews 2005). Die Sonde hat eine Länge von 153 mm und der Messkopf wird von einem Hohlzylinder mit einer Höhe von 22 mm und einem Durchmesser von 10 mm gebildet. Im Messkopf befinden sich zwei Sensorenpaare in einem Abstand von 3 und 8 mm zur Hautoberfläche zur Erfassung der Feuchtigkeit und Temperatur, sowie eine Messelektronik; durch seine zylindrische Form können Störfaktoren, wie z.B. Luftturbulenzen minimiert werden. Die Sensoren können durch Erfassung der Feuchtigkeit und Temperatur auf der Hautoberfläche und der umgebenden Luft einen Gradienten erfassen, welcher den transepidermalen Wasserverlust des Messobjekts aufzeigt. Die Elektronik ist an einem PC angeschlossen, auf dem anhand einer speziellen Software die kontinuierliche Kurve des transepidermalen Wasserverlustes abgelesen werden kann (Khazaka 2004).



Abb. 19 : Anwendung der Tewameter- Sonde TM 300 (Khazaka 2004)

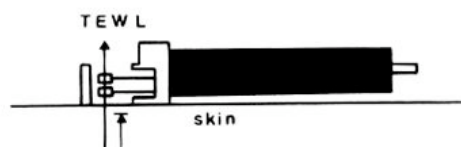


Abb. 20 : Schematische Darstellung der Tewameter- Sonde (Fluhr et al. 2005b)

3.1.7 Corneometer CM 825

In der *in vivo*- Untersuchung wurde zur Messung der Hautfeuchtigkeit das Corneometer CM 825 (Fa. Courage & Khazaka, Köln) entsprechend der geltenden Richtlinie verwendet (Berardesca 1997).

Die Messung des Wassergehalts der Hornschicht basiert auf dem Wissen von unterschiedlichen Leitfähigkeiten verschiedener Materialien. Die Tatsache, dass sich die dielektrischen Eigenschaften der Hornschicht bei unterschiedlichen Durchfeuchtungsgraden ändern, macht man sich in Form einer kapazitiven Messmethode zunutze. Medien haben verschiedene Dielektrizitätskonstanten, wobei sich Wasser mit einer Konstante von 81 deutlich von dem Medium Luft (< 7) abhebt. Diese werden vom Messkondensator erfasst. Die Länge der Sonde beträgt 110 mm und die vom Messkopf gemessene Fläche umfasst 49 mm^2 . Der Sondenkopf beinhaltet metallische Leitungsbahnen mit unterschiedlichen Ladungen, zwischen welchen sich ein elektrisches Feld aufbaut. Sie sind von der Haut durch eine dünne Glasschicht getrennt, damit durch diese kein Strom fließen kann. Ein elektrisches Streufeld durchdringt während der Messung die oberste Hautschicht, sodass die Dielektrizität gemessen werden kann. Das Messfeld hat ein Ausmaß von $7 \times 7 \text{ mm}$ und wird mit einem konstanten Druck von etwa $1,4 \text{ N}$ gemessen.

Aufgrund der kurzen Messdauer von einer Sekunde bilden sich nur geringe Okklusionseffekte. Die gewonnenen Daten können wiederum durch entsprechende Software auf dem PC abgelesen werden (Khazaka 2003).



Abb. 21 : Anwendung der Corneometer – Sonde CM 825 auf der Unterarminnenseite (Khazaka 2003)

3.2 *in vitro*- Untersuchung

3.2.1 Farbtafeln (Courage & Khazaka)

Da *in vivo*- Messungen immer von verschiedenen Variablen bezüglich inter- und intraindividuellen Unterschieden der einzelnen Probanden abhängen, musste eine Möglichkeit gefunden werden, sie durch gleiche farbliche Bedingungen für die einzelnen Messgeräte in einer *in vitro*- Messung miteinander zu vergleichen. Die Basis der *in vivo*- Untersuchungen stellten somit die *in vitro*- Messungen auf zwei normierten Farbtafeln (Firma Courage & Khazaka, Köln) dar. Auf den Farbtafeln „*bunt*“ und „*braun*“ wurden insgesamt 31 Farbfelder ausgewählt, die möglichst das gesamte Spektrum der Braun- und Rottöne der Haut widerspiegeln sollten. Diese Farbfelder wurden jeweils 20 mal mit dem Mexameter MX 18, dem Spektrometer, den Chromametern 200 und 300 und dem Colorimeter gemessen. Die Messungen fanden unter künstlichem Normlicht (CIE 1998) und standardisierten Raumbedingungen statt.



Abb. 22 : Farbtafeln *braun* und *bunt* (Firma Courage & Khazaka) mit Markierung der 31 gemessenen Farbfelder

3.3 *in vivo*- Untersuchung

3.3.1 Probanden

An der Studie nahmen 20 Probanden im Alter zwischen 22 und 50 Jahren teil. Es gab bestimmte Ein- und Ausschlusskriterien, nach denen sie in die Studie aufgenommen wurden. Es konnten männliche und weibliche Probanden im Alter zwischen 18 und 50 Jahren eingeschlossen werden, mit einem Hauttyp II und III nach Fitzpatrick (Fitzpatrick 1988) und einem Melanin- Index von <200 auf der Unterarminnenseite, welcher mit Hilfe des Mexameters bestimmt wurde.

Typ	Dermatitis solaris („Sonnenbrand“)	Bräunung
I	immer, stark ausgeprägt	nie
II	immer	evtl. leicht
III	möglich	ja
IV	sehr selten	stark
V	nie	natürliche braune Pigmentierung
VI	nie	schwarze Hautfarbe

Tab. 1 : Hauttypen nach Fitzpatrick (Fitzpatrick 1988)

Die probandenbezogenen Daten wurden schriftlich in einem Case Report Form (CRF) festgehalten. Das CRF ist ein anonymisierter Untersuchungsbogen und dient der Erfassung soziographischer Daten (Alter, Geschlecht) des Patienten, der Ein- und Ausschlusskriterien sowie der Dokumentation der Beurteilung des Hauttyps, des Atopiescores nach Diepgen (Diepgen et al. 1996) und der im Verlauf der Untersuchung gemessenen Werte. Die erfolgreiche Aufnahme des Probanden in die Studie wurde ebenfalls protokolliert. Es zeigt weiterhin die skizzierte Darstellung der Testfelder mit Markierung entsprechend der Randomisierungsliste und ermöglicht eine schriftliche Beurteilung des Irritationsscores auf allen vier Feldern. Außerdem wurden Raumtemperatur und Luftfeuchte notiert. Der genaue Aufbau des CRF kann im Anhang nachgelesen werden.

Weiterhin wurden die Probanden mit Hilfe des Erlanger Atopiescores (Diepgen et al. 1996) auf eine mögliche Hautdiathese getestet und nur wenn ein Bestehen einer atopischen Diathese als unwahrscheinlich angenommen werden konnte, wurden sie in die Studie aufgenommen. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass Seifen und Pflegeprodukte wie Cremes und Salben einige hautphysiologische Veränderungen hervorrufen, wie zum Beispiel eine Störung der Barrierefunktion, eine Änderung der Kapazität der Hornschicht aufgrund veränderter Lipidstrukturen oder Unterschiede in der Hautrötung (Agner et al. 2000, Farage et al. 2007, Vertuani et al. 2003). Daher sollten die Probanden auf eine Anwendung dieser Produkte auf dem zu messenden Hautareal der Unterarminnenseite 48 Stunden vor Studienbeginn verzichten. Bei Bestehen von dermatologischen oder schweren internistischen Erkrankungen, sowie allergischen Reaktionen auf Klebstoffe oder Tesafilm wurde die Teilnahme nicht gestattet. Zudem wurden Freiwillige, welche eine systemische oder lokale Therapie mit kortisonhaltigen Medikamenten vier Wochen bzw. zwei Wochen vor Studienbeginn erhielten, von der Studie ausgeschlossen, da sich in früheren Untersuchungen unter anderem von Haigh und Kanfer (Haigh und Kanfer 1984), Pershing et al. (Pershing et al. 1992) und Schwarb et al. (Schwarb et al. 1999) ein „Blanching“- Effekt mit Vasokonstriktion und veränderter Hydratation der Hornschicht auf lokale Behandlung mit Kortison zeigte, was die Auswertung der Studie verfälschen würde. In diesen Untersuchungen wurde festgestellt, dass kortisonhaltige Medikamente, welche auf die Haut appliziert wurden, durch Hemmung von z. B. Histamin und Bradykinin und Aktivierung von Noradrenalin eine Engstellung der Gefäße bewirken. Zum anderen führen sie zu einer Zunahme der Hornschichtfeuchtigkeit, was aufgrund von vermehrter Lichtreflexion durch Wasser einen aufhellenden Effekt auf die Haut hat. Auch andere pharmakologisch wirksame Substanzen, wie zum Beispiel Medikamente zur Behandlung der Psoriasis, durften für diesen Zeitraum nicht verwendet werden, da auch sie hautphysiologische Veränderungen hervorrufen (Fluhr et al. 2008).

Um schon bestehende Hautirritationen ausschließen zu können, durften die Probanden keine Manipulation wie Rasur und Tätowierung vier Wochen vor Studienbeginn auf dem zu messenden Hautareal durchführen. Schwangerschaft und Stillzeit waren ebenfalls Ausschlusskriterien. Die Teilnahme erfolgte auf freiwilliger Basis, eine Einverständniserklärung wurde von jedem Probanden vor Beginn der Studie nach mündlicher sowie schriftlicher Aufklärung unterschrieben. Die Probanden konnten die Studie zu jeder

Zeit ohne Nennung der Gründe abbrechen, ohne dass für sie daraus ein Nachteil entstand. Ein positives Votum für die Durchführung der Untersuchung wurde zuvor bei der Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität beantragt und ausgesprochen (Bearbeitungsnummer: 1932-01/07).

3.3.2 Atopiescore

Ein Einschlusskriterium für die Untersuchung, auf der diese Dissertation beruht, stellte die Gesundheit der Haut ohne Vorbelastung oder Schädigung in Form einer atopischen Diathese dar, da eine atopische Haut aufgrund der chronischen Schädigung der Barrierefunktion Veränderungen in der Hautrötung und Pigmentierung aufweist und unterschiedlich auf Reizung reagiert, was in verschiedenen Studien gezeigt werden konnte (Darsow et al. 1995, Gupta et al. 2008, Holm et al. 2006). Eine solche atopische Diathese konnte mit Hilfe des modifizierten Erlanger Atopiescores erfasst werden (Diepgen et al. 1996). Dieser Fragebogen beinhaltet verschiedene Merkmale der Hauterkrankung, für die zusammengefasst eine Gesamtpunktzahl von 20 erreicht werden kann, wobei ab 10 Punkten eine atopische Hautdiathese als sicher angenommen wird. Die Probanden der Farbstudie mussten demnach einen Atopiescore von weniger als 10 Punkten nachweisen, um für die Studie eingeschlossen zu werden. In verschiedenen Untersuchungen (Jakasa et al. 2006, Löffler und Effendy 1999) konnte gezeigt werden, dass eine vorgeschädigte Haut verstärkt auf irritative Methoden, wie zum Beispiel Reizung durch SLS, oder auch allergisch wirksame Substanzen reagiert, was einen Vergleich der einzelnen Messergebnisse der Probanden im Rahmen dieser Studie nicht möglich gemacht hätte. (Fragebogen siehe Anhang; CRF)

3.3.3 Klinische Beurteilung mittels adaptiertem Irritationsscore

Die klinische Beurteilung der einzelnen Testfelder erfolgte mit Hilfe des adaptierten Irritationsscores nach Frosch und Kligman (Fluhr et al. 1999b, Frosch und Kligman 1979, Tupker et al. 1997). Dieser visuelle Score dient neben der Verwendung anderer non- invasiver Methoden als valide Beurteilung einer Hautirritation und wird in verschiedene Kriterien unterteilt.

Erythem

- 0 keine sichtbare Hautveränderung
- 0,5 sehr geringe Rötung/fraglich
- 1 leichte Rötung, fleckförmig oder diffus
- 2 mäßige, gleichmäßige Rötung
- 3 starke Rötung

Schuppung

- 0 keine sichtbare Hautveränderung
- 1 angedeutete/ wenig Schuppung
- 2 mäßige Schuppung
- 3 stark mit großen Schuppen

Rauhigkeit/Trockenheit/Oberfläche

- 0 keine sichtbare Hautveränderung
- 0,5 glänzende Oberfläche
- 1 leichte Rauhigkeit/ runzlige Oberfläche
- 2 mäßige Rauhigkeit
- 3 deutliche Rauhigkeit

Ödem

- 0 keine sichtbare Hautveränderung
- 1 leichtes Ödem
- 2 mäßiges Ödem
- 3 starkes Ödem

Fissuren

- 0 keine sichtbaren Hautveränderungen
- 1 feine Fissuren
- 2 einzelne oder zahlreiche breitere Fissuren
- 3 weite Fissuren mit Hämorrhagie und Exsudation

Der jeweilige Punktwert wird aus der Summe der einzelnen Parameter errechnet (kumulativer Irritationsscore). Bei zwei dieser fünf Parameter wurde für diese Untersuchung der Grad 0,5 mit eingeführt, um vor allem initiale, milde Hautveränderungen differenziert erfassen zu können.

3.3.4 Auslösen einer Hautirritation durch Tape Stripping

Durch Abtragung oberflächlicher Zellschichten mittels Tapestripping kommt es zu einer Hautreizung. In einer Studie von Breternitz et al. (2006) wurde dieses Verfahren genau untersucht und Standards für die Verwendung dieser Art der mechanischen Hautreizung erarbeitet. Im Rahmen der Untersuchung, welche die Basis für diese Dissertation darstellt, wurden auf dem entsprechenden Messfeld sequentielle Klebefilmabrisse mit D-Squames (CuDerm Corporation, Dallas, Texas, USA) gemacht. Dabei wurde insgesamt 20x ein kreisrunder Klebestreifen mit einem Durchmesser von 22 mm auf die Haut aufgebracht, für zwei Sekunden angedrückt und sofort mit einer chirurgischen Pinzette wieder entfernt. Das Aufdrücken erfolgte mittels Stempel (CuDerm Corporation), bei dem durch ein federndes Prinzip eine Kraft von 2 N erzeugt wird und somit immer ein gleichmäßiger Druck auf den Klebestreifen ausgeübt werden konnte. Nach jeweils 5 Abrissen wird der TEWL-Wert bestimmt, um eine kontinuierliche Schädigung der Barrierefunktion durch diese mechanische Reizung aufzuzeigen. Nach 20 Abrissen erfolgt zusätzlich die Messung mittels Corneometer CM 825, sowie der Farbmessgeräte Mexameter MX 18, Chromameter 200/300, Spektrometer und Colorimeter. Dass das Prinzip des Tapestripings funktioniert, konnte in verschiedenen Studien nachgewiesen werden, beziehungsweise fand es aufgrund seiner Eigenschaften Anwendung bei Messungen von auf die Haut applizierten Substanzen, welche sich im Stratum Corneum anreicherten (Chamlin et al. 2002, Ortiz et al. 2008, Pershing et al. 1992, Shah et al. 1998).



Abb. 23: Tapestripping auf dem TS-Feld auf der Unterarminnen-seite mit D-Squame (CuDerm Corporation, Dallas, Texas, USA)

3.3.5 Hautirritation durch Natriumlaurylsulfat (SLS)

Natriumlaurylsulfat ist eine Substanz, die als Schaumbildner in handelsüblichen Shampoos und Waschlotionen breite Anwendung findet. Sie gehört aufgrund ihrer Eigenschaften der Hautreizung in Form von Rötung und Störung der Barrierefunktion zu den korrosiven Irritantien (Wilhelm et al. 1997) und findet daher in verschiedenen hautphysiologischen Studien Anwendung. In einer Studie von Tupker et al. (1997) wurden Standards für die Verwendung von SLS zur Hautirritation entwickelt. Schon bei niedrigen Konzentrationen von 0,1, 0,25, 0,5 und 1% konnte ab einer gewissen Einwirkzeit ein irritativer Effekt der Substanz auf die Haut nachgewiesen werden (Agner et al. 2002, Frosch und Kligman 1979, Koopman et al. 2004, Löffler et al. 2005, Sugár et al. 1999).

Für diese Studie wurde SLS als Pulver in 99%iger Reinheit mit destilliertem Wasser zu einer 2%igen Lösung verarbeitet. Die Konzentration wurde so gewählt, um auch schon nach vier Stunden Einwirkzeit einen deutlichen Effekt zu erzielen. Die Lösung wurde anschließend lichtgeschützt aufbewahrt. Zur Behandlung während der Studie wurden 200 µl SLS- Lösung mit Hilfe einer Pipette auf eine Filterpapierscheibe (18 mm Durchmesser) gegeben und diese dann in einer Finn Chamber, einem Kammersystem, mit dessen Hilfe sich das Testareal okklusiv verschließen lässt, auf das entsprechende Testfeld geklebt, um die Wirkung von SLS durch die daraus resultierende Okklusion noch zu verstärken (Fluhr et al. 2005b).

Nach vier Stunden Einwirkzeit wurde die Finn Chamber entfernt und das Testfeld mit einem mit destilliertem Wasser befeuchteten Wattetupfer einmalig abgetupft und anschließend vorsichtig mit einem trockenen Wattetupfer abgetrocknet, um damit die Wirkung von SLS zu beenden.

Nachfolgend wurden die Messungen mit Hilfe der in der Studie verwendeten Messgeräte durchgeführt.

3.3.6 Barrierefunktion des Stratum Corneum und TEWL

Der Begriff TEWL beschreibt den vollständigen Gehalt an Wasser, der über die Haut durch passive Diffusion abgegeben wird. Dieser transepidermale Wasserverlust ist abhängig von der relativen Luftfeuchtigkeit der Umgebung, der Temperatur und Barrierefunktion des Stratum Corneum und verhält sich umgekehrt proportional zur Dicke der Hautschicht, was die Durchlässigkeit dieser bestimmt. Weiterhin beeinflusst die Aktivität der Schweißdrüsen die Messung des TEWL, was sich bei Raumtemperaturen über 24° C oder auch bei Stressreaktionen in erhöhten Messwerten äußert.

Aufgrund dieser Eigenschaften wird die Bestimmung des TEWL oft bei Studien verwendet, um die Barrierefunktion der Haut unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen zu betrachten (Berardesca et al. 1989, Goh und Chia 1988, Kligmann und Wooding 1967).

Es gibt drei verschiedene Techniken bei der Messung des transepidermalen Wasserverlustes. Die Methode der geschlossenen Kammer erlaubt keine kontinuierliche TEWL- Messung, da sich die Luftfeuchte auf der Haut in diesem geschlossenen Raum ständig erhöht, bis sie 100 % erreicht und sich somit die Abgabe von Wasser über das Stratum Corneum ebenfalls kontinuierlich ändert. Eine Möglichkeit besteht darin, diese Kammer mit einem Gas zu belüften, welches das von der Haut abgegebene Wasser aufnimmt und dieses dann mit Hilfe eines Hygrometers gemessen werden kann. Dadurch kann auch eine kontinuierliche Messung stattfinden, jedoch kommt es zu Messfehlern, wenn das Gas eine zu geringe relative Luftfeuchte hat, was für die Haut einen Reiz für vermehrte Ausscheidung von Wasser zur Folge hätte.

Die gebräuchlichste Methode, die aktuell auf dem Markt ist, ist die Methode der offenen Kammer. Das Prinzip basiert auf der kontinuierlichen Messung des Wassergehalts der Umgebung sowie der Hautoberfläche mit Hilfe zweier Sensoren, woraus dann der TEWL berechnet werden kann. Wichtige Variablen bei dieser Methode sind Strömungen und Turbulenzen in der umgebenden Luft, sowie eine konstante Luftfeuchte (Berardesca et al. 1995, Fluhr et al. 2005b, Fluhr et al. 2005a, Serup et al. 2006). Das Tewameter TM 300 ist nach diesem Prinzip gestaltet.

Die Bestimmung des transepidermalen Wasserverlustes wurde durchgeführt, um zu Studienbeginn sicherzustellen, dass keine Störung der Barrierefunktion vorlag. Somit konnte ein Basiswert von allen vier Messfeldern vor Irritation durch die Farbmessgeräte erfasst

werden. Weiterhin konnte dadurch gesichert werden, dass die zu messenden Hautareale nicht schon zuvor durch verschiedene Reize geschädigt waren. Diese Messungen, sowie die Erhebung der Hornschichtfeuchtigkeit sind nicht eigentlicher Bestandteil der Fragestellung der Dissertation, sondern dienen als Voraussetzung dafür, eine intakte Barrierefunktion zu Beginn der Messungen aufzuzeigen, sowie eine Schädigung dieser Funktion und eine Änderung der Hornschichtfeuchtigkeit durch milde Irritation im Verlauf der Untersuchung. Daher werden die Ergebnisse dieser Messverfahren bereits in diesem Abschnitt besprochen.

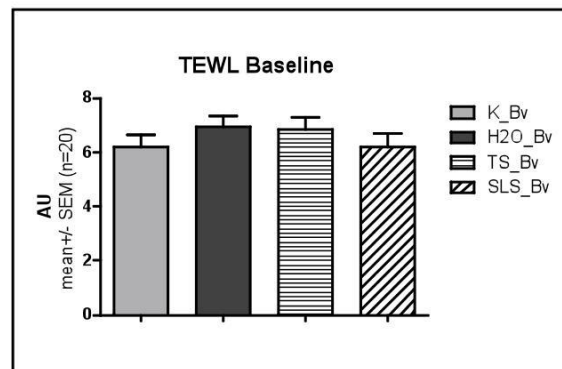


Abb. 24 : Basiswerte des TEWL zu Beginn der Studie auf den drei Testfeldern H₂O, TS und SLS, sowie auf dem Kontrollfeld K (Tewameter TM 300)

Der Basiswert lag bei einer Raumtemperatur von circa 18 bis 22°C und einer Luftfeuchte von etwa 34-40 % im Durchschnitt für alle vier Testfelder zwischen 6 und 7 g/h/m², was einem gesunden, beziehungsweise nicht irritierten Hautzustand entspricht (Khazaka 2004).

Weiterhin konnte durch Messung des transepidermalen Wasserverlustes während der Hautreizung mittels Tape Stripping eine Barrierschädigung nachgewiesen werden, was als Voraussetzung für die Messung von Rötung und Depigmentierung durch die verschiedenen Farbmessgeräte diente. Der TEWL stieg von einem Basiswert um durchschnittlich 6,8 g/h/m² ± 2,1 (Mean/SD) auf dem Testfeld TS nach 5 Behandlungen mit D-Squames auf 9,4 g/h/m² ± 2,8 und nach 10 Behandlungen auf 11 g/h/m² ± 2,6. Nach 15 Behandlungen lag der mittlere Wert des transepidermalen Wasserverlustes bei 13 g/h/m² ± 3,0 und nach 20 Abrissen war der

TEWL auf einen Wert von $14,7 \text{ g/h/m}^2 \pm 3,6$ angestiegen, was auf eine klinisch relevante Schädigung der Barrierefunktion der Haut hinweist.

Nach vier Stunden wurde der TEWL erneut auf dem Testfeld TS bestimmt. In dieser Zeit hatte eine Regeneration der Barrierefunktion begonnen, was sich in einem verminderten TEWL ausdrückt. Der Wert sank dabei auf durchschnittlich $10,1 \text{ g/h/m}^2 \pm 3,2$.

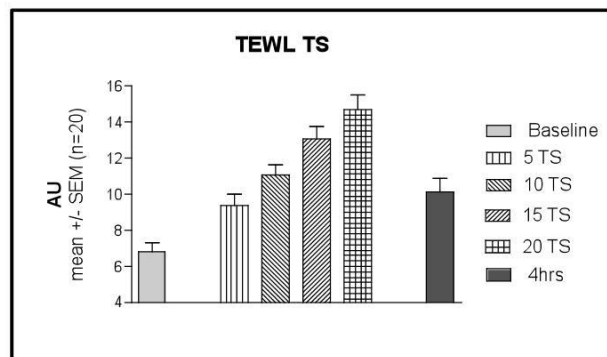


Abb. 25 : Messwerte des TEWL (TM 300) auf dem Testfeld TS zu Beginn der Studie, nach 5-,10-,15- und 20-maliger Behandlung mit Tape Stripping und nach 4 Stunden

Neben der Hautirritation durch Tape Stripping erfolgte zudem die Reizung durch Behandlung mit 2%iger Natriumlaurylsulfat- Lösung und destilliertem Wasser für vier Stunden unter Okklusion auf den dafür entsprechend markierten Testfeldern.

Auf dem SLS- Feld konnte ebenfalls mit Hilfe der TEWL- Messung eindeutig eine Störung der Barrierefunktion nachgewiesen werden. Die erhöhten Werte des transepidermalen Wasserverlustes auf dem H₂O-Feld lassen sich am ehesten durch Restabundung der Okklusionsfeuchtigkeit erklären.

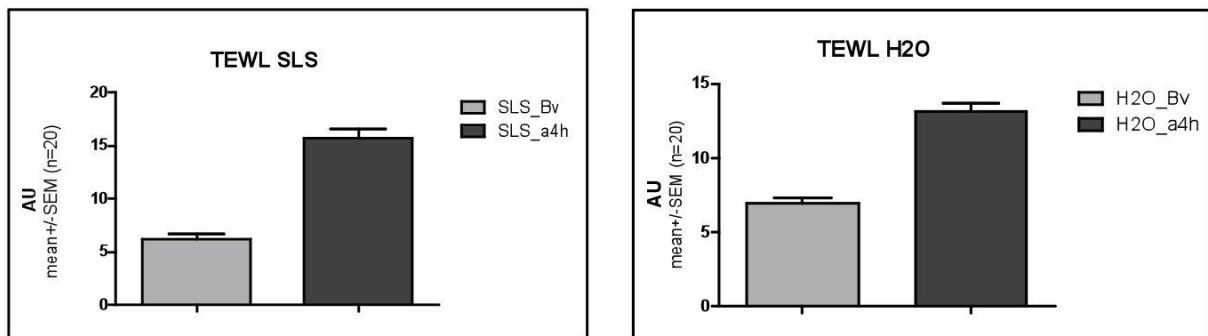


Abb. 26 : TEWL- Messwerte (TM 300) des SLS- Feldes und des H₂O- Testfeldes zu Beginn der Studie und nach 4 Stunden

Auf dem SLS- Testfeld stieg der TEWL Wert von anfänglich durchschnittlich $6,2 \text{ g/h/m}^2 \pm 2,4$ auf $15,7 \text{ g/h/m}^2 \pm 3,8$ und auf dem H₂O- Feld erhöhte sich der transepidermale Wasserverlust von im Mittel $7 \text{ g/h/m}^2 \pm 1,7$ zu Beginn der Studie auf $13 \text{ g/h/m}^2 \pm 2,8$ nach vierstündiger Behandlung mit destilliertem Wasser unter Okklusion.

Mit Hilfe der TEWL- Messung konnte demnach bewiesen werden, dass die verschiedenen Modelle der Hautreizung eine Irritation hervor riefen, was Voraussetzung für den Einsatz der Farbmessgeräte war.

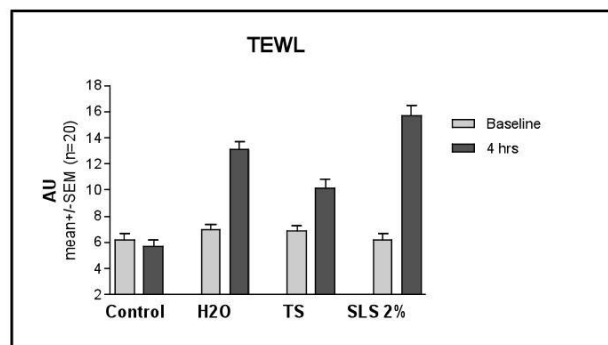


Abb. 27 : TEWL- Messwerte (TM 300) der drei Testfelder H₂O, TS und SLS, sowie des Kontrollfeldes K zu Beginn der Studie und nach 4 Stunden

3.3.7 Hydratation des Stratum Corneum

Das Corneometer diente dem Aufzeigen einer gleichmäßigen Hornschichtfeuchtigkeit auf allen vier Messfeldern zu Beginn der Farbstudie. Es wurden mittlere Werte (Mean/ \pm SD) zwischen $37,01 \pm 4,9$ (arbitrary units) auf dem H₂O- Feld und $39,06 \pm 5,2$ auf dem Kontroll-Feld bei einem Median von ebenfalls 37 - 40 gemessen, die unter standardisierten Bedingungen nach Angaben des Herstellers einer tendenziell trockenen Haut entsprechen (Khazaka 2003).

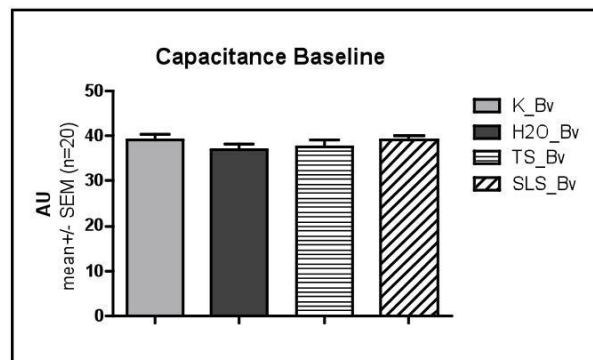


Abb. 28 : Basismesswerte der Kapazität des Stratum Corneum (SC) auf den vier Messfeldern K, H₂O, TS und SLS mittels CM 825

Eine signifikante Abnahme der Hornschichtfeuchtigkeit von $p < 0,0001$ zeigte sich nach Einwirkung von H₂O unter vierstündiger Okklusion. Zudem konnte ein „Auswascheffekt“ im Stratum Corneum, also eine Abnahme des Feuchtigkeitsgehalts durch Herauslösen von Lipiden der Hornschicht mit wasserhaltenden Eigenschaften durch Einwirkung von SLS als Zeichen einer schwachen Reaktion in verschiedenen Studien nachgewiesen werden (Agner et al. 2000, Fluhr et al. 2005b, Serup et al. 2006). Zu Beginn der Untersuchung wies die Hornschicht des SLS- Testfeldes eine mittlere Kapazität von $39,0 \pm 5,0$ auf, nach Applikation der Lösung und einer Einwirkzeit dieser von 4 Stunden betrug die mittlere Kapazität $31,0 \pm 3,7$. Der Unterschied zwischen den Messwerten ist signifikant bei $p < 0,0001$.

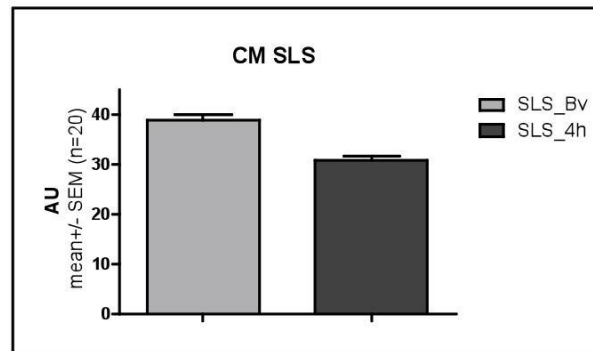


Abb. 29 : Messwerte der Kapazität auf dem SLS-Testfeld zu Beginn der Studie und nach vier Stunden mittels CM 825

3.4 Studiendurchführung

Die Studie wurde in zwei Schritten durchgeführt.

3.4.1 *in vitro*- Teil

Die Messungen der Farbtafeln „braun“ und „bunt“ (Fa. Courage & Khazaka) fanden in einem Zeitraum von einer Woche im Juni 2007 statt. Sie wurden im Photolabor der Klinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie der FSU Jena unter künstlichem Normlicht (CIE 1998) und standardisierten Raumbedingungen von $21\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ und 20-40 % Luftfeuchte durchgeführt. Die insgesamt 31 Farbfelder wurden jeweils 20 mal mit jeder einzelnen Sonden gemessen und die gewonnenen Daten in die Tabellen eines dafür angefertigten CRF übernommen.(Tafeln siehe Anhang)

3.4.2 *in vivo*- Teil

Im Rahmen der Farbstudie wurden Messungen in einem Zeitraum von Juni bis Juli 2007, sowie vom 10. bis 15. September 2007 an 20 hautgesunden Probanden durchgeführt. Die Messungen fanden im Hautphysiologischen Labor der Klinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie der FSU Jena unter standardisierten Raumbedingungen ($21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 20-40% Luftfeuchtigkeit, künstliches Normlicht) statt.

Für jeden Probanden wurde ein anonymisiertes CRF angefertigt. Mindestens 24 Stunden vor Beginn der Messungen wurden die Probanden mündlich und schriftlich aufgeklärt. Am Tag der Studiendurchführung wurden sie anhand der Ein- und Ausschlusskriterien in die Studie aufgenommen. Vorgeschrieben war eine Akklimatisationszeit von 30 Minuten vor Beginn der ersten Messungen. Die Probanden sollten sich während dieser Zeit ruhig sitzend, unter standardisierten Raumbedingungen und mit exponierten Unterarmen, welche später den Messungen zugänglich sein sollten, aufhalten.

Anschließend wurden auf der Unterarminnenseite beider Arme insgesamt vier Messfelder, zwei auf jeder Seite, mit einem Hautstift markiert und mit den Bezeichnungen Kontrollfeld, SLS- Feld, H₂O-Feld und TS-Feld gekennzeichnet. Die Fläche der Markierung betrug 5 x 5 cm. Die Aufteilung der unterschiedlichen Messfelder erfolgte anhand einer zuvor erstellten Randomisierungsliste, nach der sie zufällig den einzelnen Probanden in unterschiedlicher Reihenfolge zugeteilt wurden. Das ist eine Möglichkeit, um individuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden bezüglich der Durchblutung und Hautpigmentierung der verschiedenen Hautareale zu minimieren und eine Vergleichbarkeit herzustellen. Anschließend erfolgte die Erhebung des Irritationsscores durch einen trainierten Beobachter und die Erfassung der Basismesswerte für jedes Testfeld mit Dokumentation im CRF.

Jedes Testfeld wurde zuerst mit dem Tewameter TM 300 und anschließend mit dem Corneometer CM 825, dem Mexameter MX 18, den Chromametern 200/300, dem Spektrometer und dem Colorimeter gemessen. Dabei wurden mit dem TM 300 jeweils zwei Werte genommen, und bei den anderen Messgeräten jeweils drei Werte bestimmt und im CRF dokumentiert.

Nach den Basismessungen folgte die Behandlung des SLS- Feldes und des H₂O-Feldes. Auf Ersteres wurde eine Finn Chamber mit einem Filterpapierscheibchen gebracht, auf das zuvor

200µl SLS- Lösung pipettiert worden war. Gleiches Verfahren fand am H₂O-Feld mit einer mit 200 µl destilliertem Wasser benetzten Filterpapierscheibe statt.

Weiterhin erfolgte die Hautreizung mittels Tapestripping auf dem entsprechend markierten Testfeld. Nach jeweils fünf Abrissen wurden TEWL- Messungen durchgeführt und nach erfolgten 20 Applikationen von D- Squames erfolgten zusätzlich Messungen mit allen anderen Messgeräten. Zudem wurde der Irritationsscore dieses Feldes bestimmt.

Nach vierstündiger Einwirkzeit von SLS und H₂O unter Okklusion und nachfolgender 30-minütiger Akklimation der entsprechenden Testfelder wurde ebenfalls der Irritationsscore auf den drei Testfeldern und dem Kontrollfeld beurteilt und abschließende Messungen der Testfelder mit allen Messgeräten durchgeführt.

Alle durchgeführten Messungen und Werte wurden im CRF des Probanden durch denselben Untersucher dokumentiert.

Neben wichtigen Faktoren, welche die Messergebnisse stark verändern können und daher in die Liste der Ausschlusskriterien aufgenommen wurden, gibt es verschiedene Variablen, welche die Messungen weiterhin beeinflussen können. Das sind zum einen Unterschiede zwischen den einzelnen Probanden bezüglich des Alters, des Geschlechts und der Rasse (Berardesca und Maibach 1988a, Berardesca und Maibach 1988b, Marrakchi und Maibach 2007, Marrakchi und Maibach 2006). Um diese Unterschiede auszugleichen, bzw. zu minimieren, damit sie möglichst keinen Einfluss auf die Ergebnisse haben, wurde die Altersbegrenzung von 18 bis 50 Jahren festgelegt und eine vergleichbare Anzahl männlicher (n=8) und weiblicher (n=12) Teilnehmer in die Studie eingeschlossen. Zudem wurden nur Probanden der kaukasischen Rasse mit einem Hauttyp II und III in die Studie aufgenommen. Weiterhin bestehen hautphysiologische Unterschiede der einzelnen Körperareale (Cua et al. 1990). Daher beschränkten sich die Testfelder auf Areale der Unterarminnenseite beider Arme, die zudem per Randomisierungsliste für die Probanden unterschiedlich angeordnet wurden. Am Tag der Messungen wurden die Probanden angehalten, maximal eine Tasse Kaffee oder schwarzen Tee zu trinken und nicht unmittelbar vor Studienbeginn zu rauchen, da die darin enthaltenen sympathikusaktivierenden Substanzen sich vasokonstriktorisch und stimulierend auf die Schweißsekretion auswirken und somit die Messungen beeinflussen würden.

Die Jahres- sowie Tageszeit und bestimmte Raumbedingungen sind weitere Faktoren, welche Unterschiede bei den Messungen hervorrufen können (Fluhr et al. 2005c, Fluhr et al. 2005d). Um den Effekt dieser Schwankungen zu minimieren, wurde die Studie in einem engen Zeitraum in den Sommermonaten Juni bis Juli, sowie September in einem Raum unter standardisierten Bedingungen ($21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 20-40% Luftfeuchtigkeit, künstliches Normlicht) durchgeführt.

Aufgrund der Dauer der einzelnen Messabfolgen von circa 45 Minuten und der vierstündigen Einwirkzeit von SLS und H_2O waren tageszeitabhängige Veränderungen in der Hautphysiologie der Probanden nicht auszuschließen. Um diese möglichen Unterschiede erkennen zu können, wurden Messungen jeweils zu Beginn der Untersuchungen und nach vier Stunden auf einem Kontrollfeld durchgeführt.

3.5 Statistische Methoden

Die statistische Datenanalyse wurde mit dem Statistikprogramm Prism5 für Windows (GraphPad, San Diego, CA, USA) durchgeführt, die Erstellung der Graphiken erfolgte ebenfalls mit Hilfe dieses Programms. Für die Erstellung von Tabellen wurde Microsoft Excel verwendet.

Eine Normalverteilung nach Gauß wurde für alle Messungen mit Hilfe des Kolmogorow-Smirnow-Test berechnet.

Für den Vergleich der vier Testfelder wurden die Basiswerte, sowie die Messwerte nach vier Stunden für jedes Messgerät mit Hilfe einer Varianzanalyse (einfache ANOVA; F-Test) für wiederholte Messungen betrachtet, da die Datenerfassung über einen bestimmten Zeitraum wiederholt an derselben Gruppe von Teilnehmern stattfand. Zudem wurden die Messwerte der Basismessung, der einzelnen Tapestripping- Abschnitte und der Messung nach vier Stunden auf dem TS- Feld mittels einfacher ANOVA verglichen.

Weiterhin wurde für alle Messgeräte ein t- Test für abhängige Stichproben für den Vergleich der Ergebnisse der Basismessung und der Messung nach vier Stunden für jedes einzelne Testfeld eingesetzt. Für das TS- Feld wurden zusätzlich noch die Werte nach 20 Abrissen und

nach vier Stunden mit Hilfe des t- Tests für abhängige Stichproben verglichen. Diese Methode fand auch Verwendung bei der Auswertung der einzelnen TEWL- Messungen auf dem TS- Feld nach 5, 10, 15 und 20 Abrissen. Verglichen wurde der Basiswert mit dem Wert nach 5 Abrissen, der Wert nach 5 Abrissen mit dem nach 10 Abrissen, dieser wiederum mit dem Ergebnis nach 15 Abrissen und dieser erneut mit dem Messwert nach 20 Behandlungen mit D-Squames.

Der Irritationsscore wurde ebenfalls für jedes Testfeld mit Hilfe des t- Tests für abhängige Stichproben betrachtet, indem erneut der Basiswert mit dem Wert nach vier Stunden verglichen wurde.

Um zu zeigen, dass der Altersunterschied zwischen beiden Geschlechtern nicht signifikant ist, wurde der t- Test für unabhängige Stichproben verwendet.

Die errechneten p- Werte des F- Tests und des t- Tests wurden in eine Excel- Tabelle aufgenommen und das Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ für alle statistischen Tests festgelegt. Um Unterschiede von Varianzen herauszufinden und eine Reihenfolge der Messgeräte nach ihrer Messgenauigkeit zu erstellen wurde zusätzlich der F-Wert für die einfaktorielle ANOVA und der t- Wert für den t- Test parallel zum p- Wert bestimmt. Der kritische F- Wert mit $F(1-\alpha) = 0,95$ lag für den t- Test mit 19 Freiheitsgraden bei $t \geq 2,093$.

Bei der einfaktoriellen ANOVA lag der kritische F-Wert für 4 Gruppen ($df = 3$) und 20 Probanden ($df = 19$) bei $F \geq 3,13$ und für 3 Gruppen ($df = 2$) und 20 Probanden ($df = 19$) bei $F \geq 3,52$.

Der F- Wert wird hier nach folgender Formel berechnet :

$$F = \frac{SS_{bt} / df_{bt}}{SS_{wt} / df_{wt}} ,$$

mit SS_{bt} als Mittelwertsunterschiede zwischen den Gruppen und SS_{wt} als Varianz innerhalb der Gruppen (<http://www.zwisler.de/edv/anova.html> 2008).

Für die Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung wurden Grafiken erstellt und für jede einzelne Messreihe B1-6, D1-6, F1-6, I1-6, H2, B*2-4 und C*5- E*5 der entsprechende Variationskoeffizient bestimmt. Der Variationskoeffizient ist die relative Standardabweichung und errechnet sich aus der Standardabweichung dividiert durch den Mittelwert und dient zur Normierung der Varianz. Er wird in Prozent angegeben (Hartung et al. 2005).

4. Ergebnisse

4.1 *in vitro*- Untersuchung

In der *in vitro*- Untersuchung wurden Messungen an zwei Farbtafeln *braun* und *bunt* der Firma Courage & Khazaka vorgenommen. Diese sind zum einen in Reihen A bis I aufgeteilt, zum anderen erfolgen Abstufungen der Farben nach Helligkeit von 1 bis 6, wobei 1 einem L*-Wert von circa 90 und 6 einem L*-Wert von circa 15 entspricht. Die Unterteilung der L*-Werte erfolgt demnach von 90 bis 15 in Abstufungen von jeweils 15 Einheiten. Gemessen wurden die Reihen B1-B6, D1-D6, F1-F6 und I1-I6, sowie die Farbe H2 auf der Farbtafel *braun* und die Farben B*2-4 und C*5, D*5 und E*5 der Farbtafel *bunt*. Es erfolgten für jedes Messgerät jeweils 20 Messungen einer Farbe. Die Ergebnisse wurden anschließend für die a*-Werte bzw. den Erythem- Index und die L*-Werte/ Melanin- Index grafisch dargestellt. Eine Übersicht über die gemessenen Felder der Farbtafeln befindet sich im Anhang der Dissertation.

4.1.1 Erfassung des Rotanteils ausgewählter Farben

Wenn man sich die Grafiken für die Erythemwerte der einzelnen Farbmessgeräte der verschiedenen Farbreihen B bis I, sowie B*2-4 und C*5, D*5 und E*5 der Farbtafeln *braun* und *bunt* in der Übersicht betrachtet, so lassen sich einige Gemeinsamkeiten zwischen den verschiedenen Farbmessgeräten feststellen. Um beurteilen zu können, wie genau die einzelnen Messgeräte die Werte erfasst haben, wurden zusätzlich der Variationskoeffizient (CV = Coefficient of Variation) für jede einzelne Messreihe bestimmt und dieser ebenfalls in entsprechenden Grafiken dargestellt.

Der Variationskoeffizient ist die relative Standardabweichung, in der Regel in Prozent angegeben, und dient der Normierung der Varianz. Als Orientierung gilt, dass ein Variationskoeffizient $< 10\%$ einer kleinen Streuung entspricht, das heisst, eine relativ homogene Verteilung der Messwerte liegt vor (<http://www.uni-oldenburg.de/zef/k3659/kap-5/vko-eig.html> 2008, Hartung et al. 2005).

Kennzeichnend für alle Geräte ist eine Zunahme des Rotanteils mit steigenden a^* - Werten von Reihe B nach Reihe I bis zur Stufe 5 mit anschließender Abnahme des Rotanteils auf Stufe 6. Eine Zunahme des Rotanteils von Farbe B*2 über B*3 nach B*4, sowie C*5 über D*5 bis E*5 der Farbtafel *bunt* liess sich mit allen Farbmessgeräten nachweisen.

Bezogen auf die Standardabweichung zeigt sich in der Übersicht weitestgehend ein Abfall des Variationskoeffizienten von B nach I der Farbtafel *braun* für alle Farbmessgeräte. Im Zusammenhang mit der Veränderung des Rotanteils bedeutet dies eine Verbesserung der Messgenauigkeit mit Zunahme des Rotanteils.

Die Variationskoeffizienten der Farben auf der Farbtafel *bunt* zeigen für alle Messgeräte insgesamt sehr niedrige Werte, bei einem eher inhomogenen Muster ist keine genaue Tendenz zwischen den einzelnen Farben erkennbar.

Innerhalb der Reihen B1-6, D1-6, F1-6 und I1-6 der Farbtafel *braun* zeigt sich für den Erythem- Index des Mexameters eine Zunahme des Rotanteils bis zur Stufe 5 mit einem Abfall des Wertes für Stufe 6. Auch für die Farbtafel *bunt* konnte eine Zunahme des Rotanteils von B*2 nach B*4, sowie C*5 nach E*5 durch das Mexameter nachgewiesen werden.

Bezogen auf den Variationskoeffizienten zeigt das Mexameter mit Werten zwischen 0,13% und 2,05 % bei einem Durchschnittswert von 0,45 % für die Farbtafel *braun* und Werten von 0,13 % und 0,4 % mit einem Mittelwert von 0,2% für die Farbtafel *bunt* von allen Farbmessgeräten die geringsten Standardabweichungen. Die höchsten CV's in den einzelnen Reihen stimmen jeweils mit der Abnahme des gemessenen Rotanteils auf Stufe 6 überein.

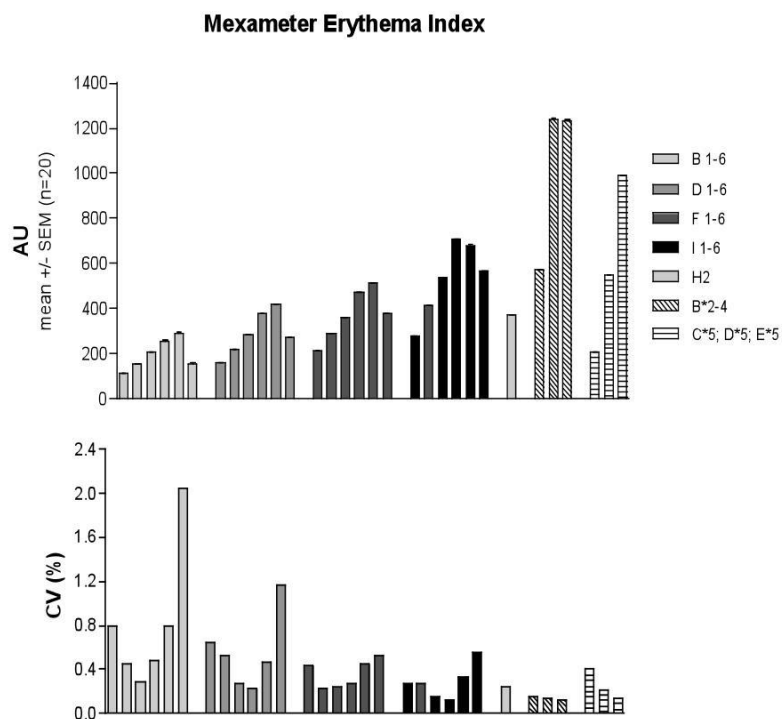


Abb. 30: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den Erythem- Index des Mexameters

Die Messwerte des Chromameters 200 zeigten in Bezug auf den Rotanteil der Farben ebenfalls einen leichten Anstieg in den Farbreihen B1-6 und D1-6 mit Abfall auf Stufe 6. Für die Reihe F 1- 6 ist diese Tendenz nicht erkennbar, die Grafik zeigt ein inhomogenes Muster mit schwankenden Werten. Auch in Reihe I zeigt sich kein kontinuierlicher Anstieg des a^* -Wertes, vielmehr stellt sich eine Parabel dar, mit den höchsten Werten auf Stufe 3 und 4.

Deutlicher wird der kontinuierliche Anstieg des Rotanteils auf der Farbtafel *bunt*. Wenn man dabei den CV betrachtet, zeigen sich dort die niedrigsten Werte von durchschnittlich 0,13 %. Auf der Farbtafel *braun* ist in Bezug auf die Standardabweichung eine fallende Tendenz von Reihe B nach Reihe I zu erkennen, mit einem durchschnittlichen Wert von 1,054 % liegt sie höher als die des Mexameters.

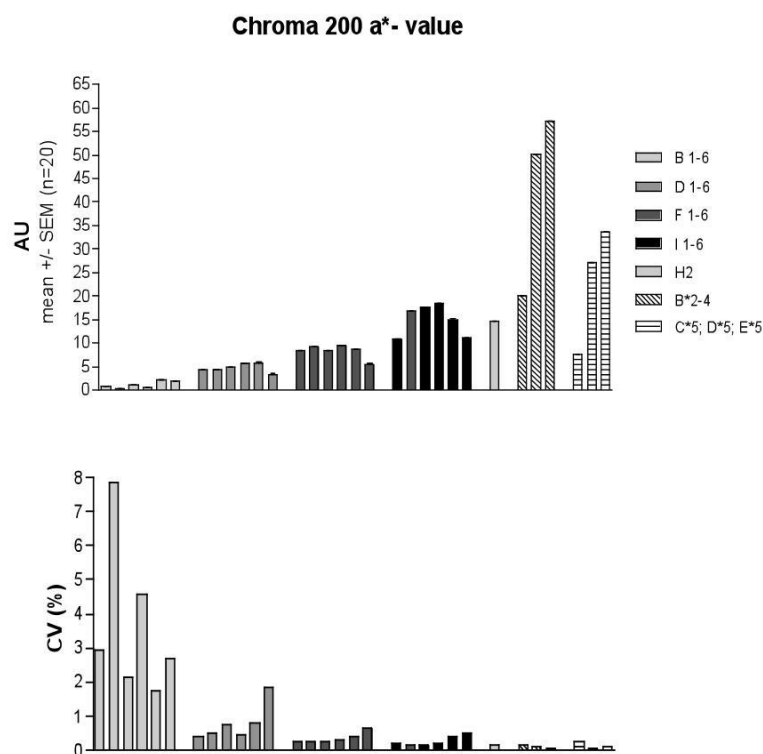


Abb. 31: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den a^* -Wert des Chromameters 200

Die Messwerte, welche vom Chromameter 300 für den Rotanteil der Farben erreicht wurden, ähneln denen des Chromameters 200. Erkennbar ist auch hier eine steigende Tendenz der Werte für die Reihen B und D, ein eher inhomogenes Muster für Reihe F und ein parabelförmiger Verlauf der Werte für Reihe I der Farbtafel *braun*.

Die Messwerte der Farbtafel *bunt* wiederum haben eine steigende Tendenz von B*2 nach B*4 und C*5 nach E*5. Im Vergleich dazu nimmt der Variationskoeffizient mit steigendem Rotanteil ab, mit einem durchschnittlichen Wert von 0,93 % für die Farbtafel *braun* und 0,42% für die Farbtafel *bunt*.

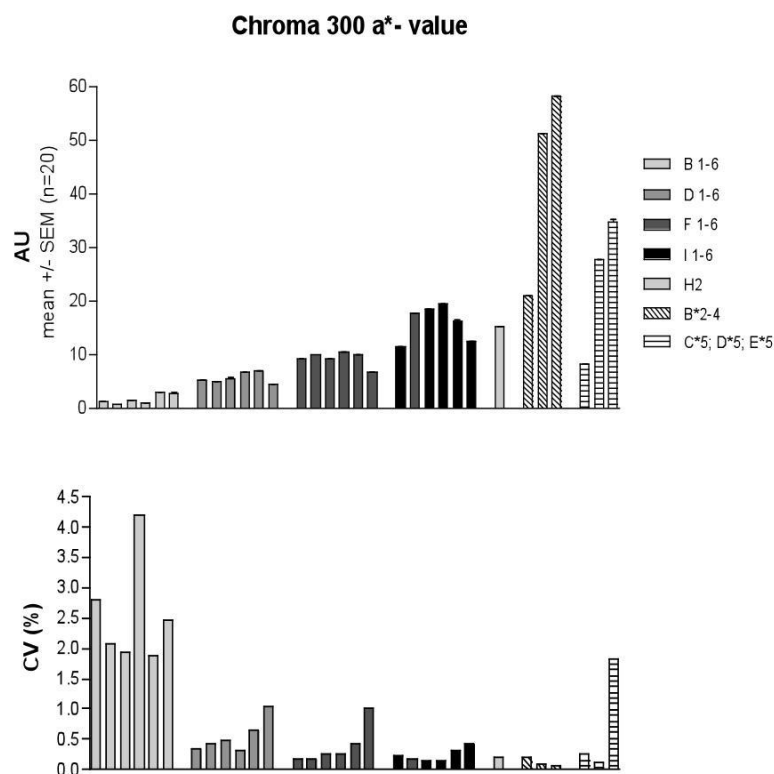


Abb. 32: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den a*-Wert des Chromameters 300

Bei den Messergebnissen des Colorimeters ist kein Anstieg des Rotanteils innerhalb der einzelnen Reihen B, D, F und I erkennbar, sondern ein eher plateauförmiges Muster mit Abfall der Werte auf Stufe 6, bzw. ein parabelförmiger Verlauf in Reihe I.

Im Vergleich dazu steigt der CV innerhalb der einzelnen Reihe von Stufe 1 nach Stufe 6, zeigt aber insgesamt eine fallende Tendenz von Reihe B nach Reihe I mit einem durchschnittlichen Wert von 1,51% für die Farbtafel *braun*. Die Werte der Farbtafel *bunt* wiederum zeigen eine deutliche steigende Tendenz von B*2 nach B*4 und C*5 nach E*5 mit niedriger Standardabweichung von durchschnittlich 0,28 %.

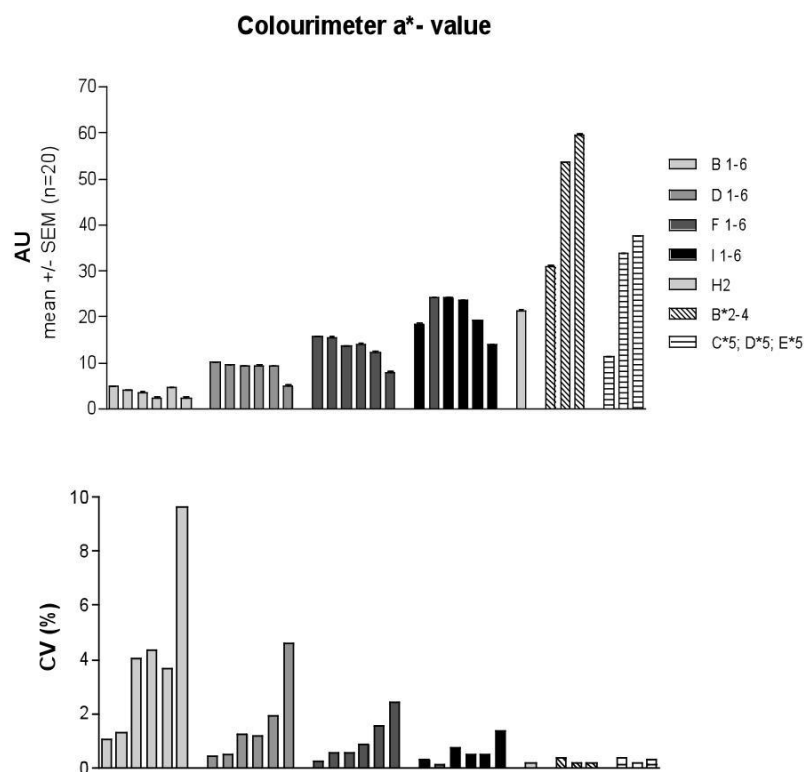


Abb. 33: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den a*-Wert des Colorimeters

Für die Messergebnisse des Spectropens lassen sich ähnliche Feststellungen treffen, wie für die Erythemwerte des Colorimeters. Auch hier ergeben sie in der Grafik ein plateauförmiges Muster für Reihe B, D und F und eine Parabelform für Reihe I.

Die Standardabweichung nimmt innerhalb der Reihen zu, zeigt aber eine fallende Tendenz von Reihe B nach Reihe I und korreliert somit mit Zunahme des Rotanteils bei einem durchschnittlichen Wert von 1,64%.

Auf der Farbtafel *bunt* zeigt sich wiederholt ein kontinuierlicher Anstieg von B*2 nach B*4 und C*5 nach E*5 mit einem durchschnittlichen CV von 0,4 %.

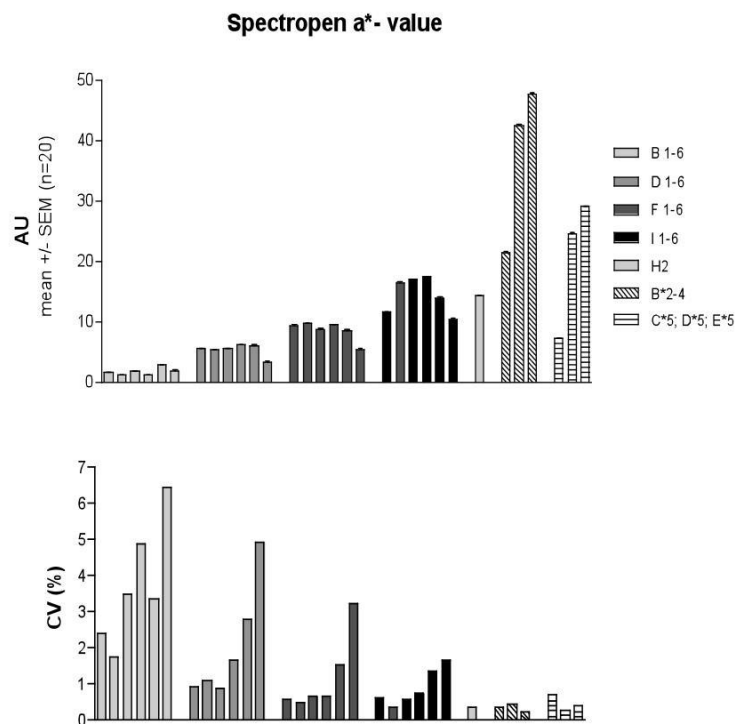


Abb. 34: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für den a*-Wert des Spectropens

Während sich der Grossteil der Werte des Mexameters zwischen 0,2 und 0,8 % bewegen und damit die geringste Standardabweichung aufzeigen, schwankt der CV für das Colorimeter, den Spectropen und das Chromameter 200 vor allem in Reihe B und F zwischen 1% und 9% mit fallender Tendenz in Reihen D und I. Das Chromameter 300 nimmt mit Werten von durchschnittlich 2,5% in Reihe B und einem CV von 0,3 bis 0,5 % für Reihe F bis I eine mittlere Stellung ein.

Für die Messungen auf der Farbtafel *bunt* zeigt sich für alle Messgeräte sehr niedrige CV's von durchschnittlich 0,2 bis 0,4 %. Eine deutliche Abgrenzung eines Messgerätes gegenüber der anderen ist nicht zu erkennen.

4.1.2 Erfassung der Helligkeit ausgewählter Farben

Bei den Messergebnissen des Colorimeters ist eine eindeutig abfallende Tendenz für die Helligkeit bzw. den L*-Wert innerhalb jeder gemessenen Farbreihe der Farbtafel *braun* erkennbar. Zwischen den einzelnen Reihen B bis I ist jedoch kaum eine Minderung der Helligkeit erkennbar. So liegen die Werte für B1, D1, F1 und I1 zwischen 84,2 und 88,4, für B2-I2 zwischen 73 und 75, wobei auch die Farbe H2 mit 75,1 in dieses Spektrum fällt, die Farben B3-I3 zeigen Helligkeitswerte von durchschnittlich 60 und auch in den Helligkeitsabstufungen 4 bis 6 liegen die Werte bei 43 ± 2 für Abstufung 4, bei 31 ± 3 für Abstufung 5 und bei 23 ± 4 für Abstufung 6 für alle Farbreihen der Farbtafel *braun*.

Auf der Farbtafel *bunt* gibt das Colorimeter für B*2 im Vergleich zu B*3 und 4 die höchsten L*- Werte an, gefolgt von B*4 und anschließend B*3, in der Farbfolge C*5, D*5, E*5 ist wieder eine abfallende Tendenz des L*- Wertes erkennbar.

Wenn man sich dazu den Variationskoeffizienten betrachtet, so fällt auf, dass die Streubreite mit Abnahme der Helligkeit zunimmt, für die Farbstufen 1 bis 3 der Farbtafel *braun* bei circa 0,02% bis 0,05% liegt und für die Stufen 4 bis 6 Werte zwischen 0,09% und 0,26% annimmt. Auf der Farbtafel *bunt* liegt die Standardabweichung für die gemessenen Farben zwischen 0,02% und 0,06%.

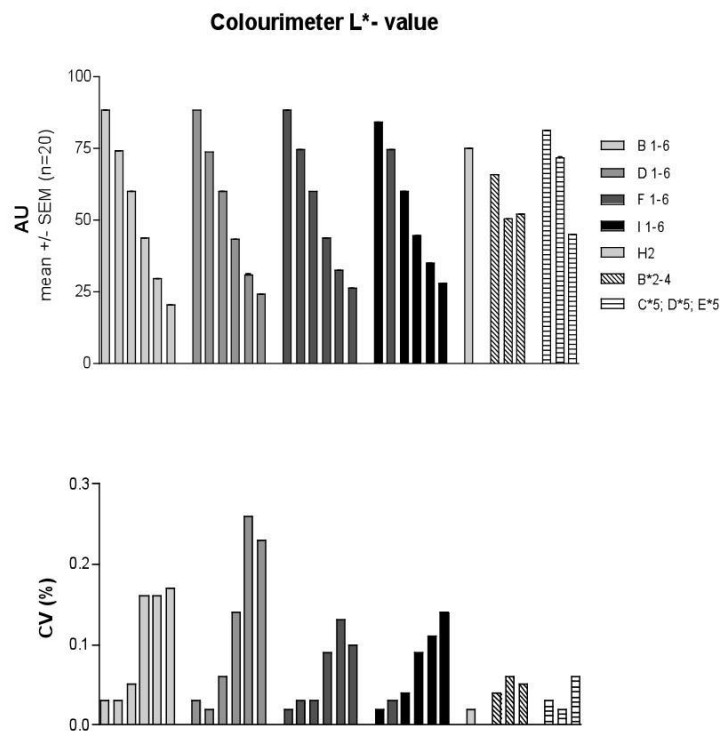


Abb. 35: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Colorimeters

Für das Chromameter 200 lassen sich bezüglich der L*- Werte ähnliche Aussagen wie für das Colorimeter treffen. Auch hier ist eine kontinuierliche Abnahme der Helligkeit von Stufe 1 bis Stufe 6 erkennbar, ohne Abnahme des L*- Wertes innerhalb der Reihen B bis I. So ergeben sich auch hier Helligkeitswerte von durchschnittlich 85 ± 3 für Stufe 1, 71 ± 2 für Stufe 2, 57 ± 1 für Farbstufe 3 und 42 ± 1 für Farbstufe 4. Die Werte der Abstufungen 5 und 6 liegen wie beim Colorimeter bei 31 ± 3 für Abstufung 5 und bei 23 ± 4 für Abstufung 6 für alle Farbreihen der Farbtafel *braun*.

Die Werte der Farbtafel *bunt* zeigen den gleichen Verlauf wie die des Colorimeters mit einer fallenden Tendenz der Helligkeit von C*5 nach E*5, sowie einem Abfall des L*- Wertes von B*2 nach B*3 mit anschließend leichtem Anstieg nach B*4. Bezüglich der Standardabweichung liegen die Werte des Chromameters 200 nur gering unter denen des Colorimeters mit durchschnittlichen Werten von 0,07% für Farbtafel *braun* und 0,03% für Farbtafel *bunt*.

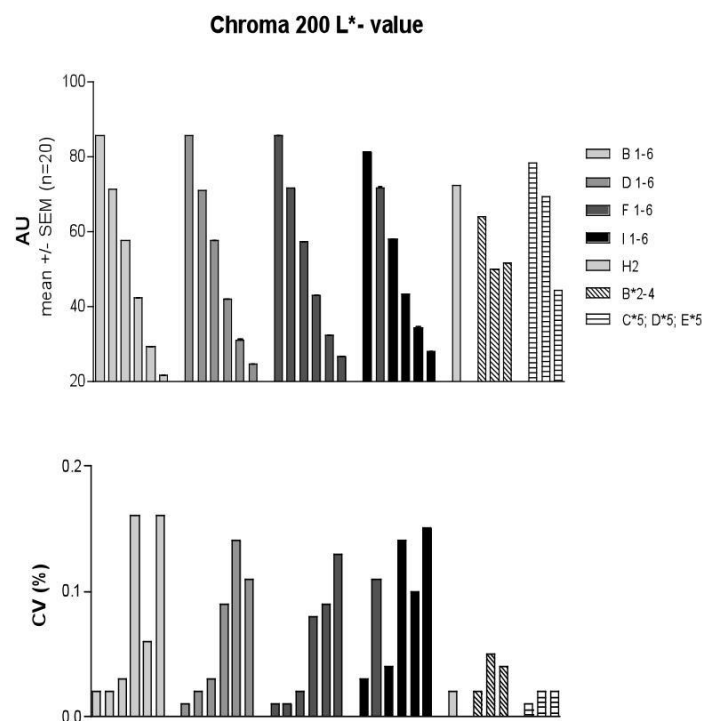


Abb. 36: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Chromameters 200

Die Messergebnisse des Chromameters 300 bezüglich der Helligkeit der Farben unterscheiden sich nur unwesentlich von denen des Chromameters 200. In der Grafik zeigt sich der gleiche Verlauf wie bei den vorhergehenden Messgeräten und bezüglich des Variationskoeffizienten liegen die durchschnittlichen Werte nur gering über denen des Chromameters 200 mit 0,09% für Farbtafel *braun* und 0,07% für Farbtafel *bunt*.

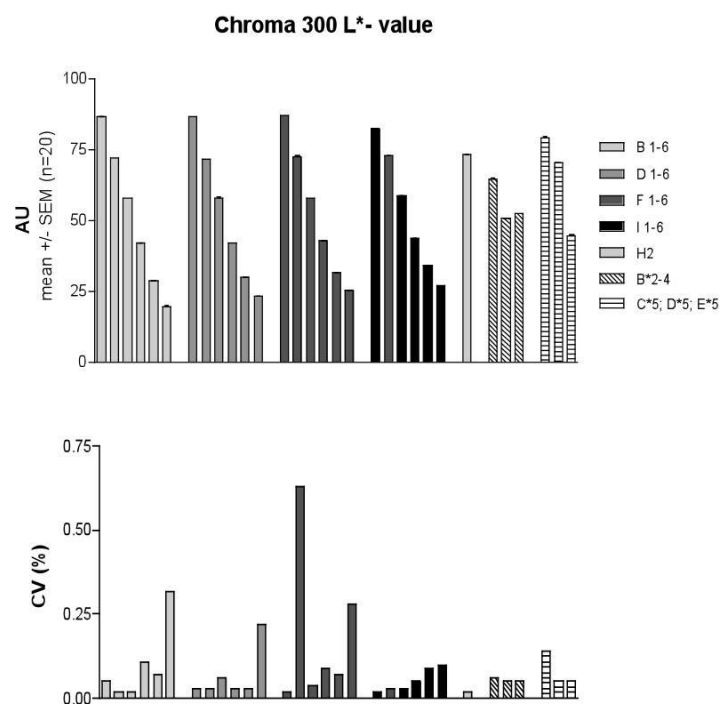


Abb. 37: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Chromameters 300

Der Spectropen erreichte mit den gemessenen L*- Werten ebenfalls ähnliche Ergebnisse wie die oben aufgeführten Messgeräte. Der Unterschied zu ihnen wird durch höhere Werte in der Standardabweichung erkennbar. Hier zeigte sich ein durchschnittlicher Wert von 0,38% für die Farbtafel *braun* und 0,22% für Farbtafel *bunt*.

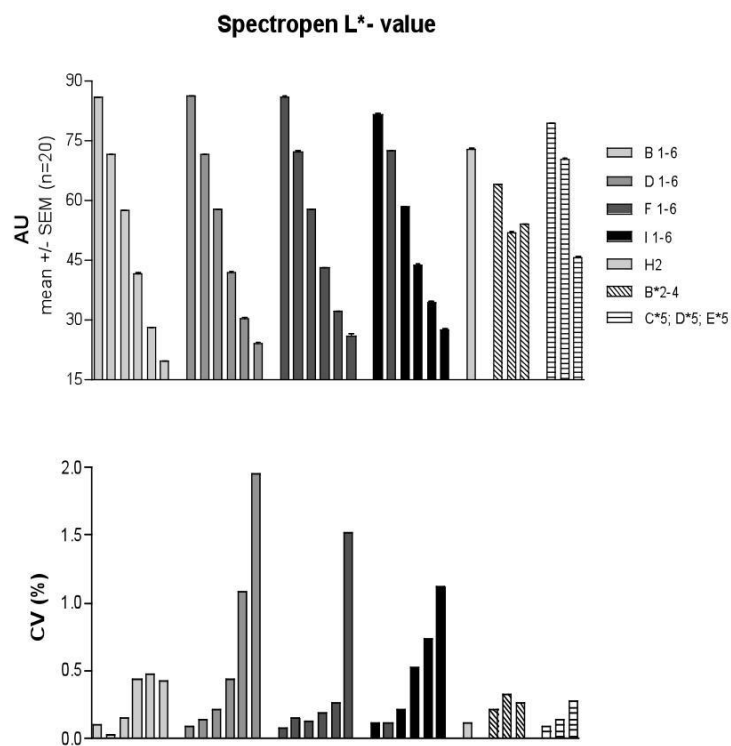


Abb. 38: Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Spectropens

Für die Werte des Mexameters ist eine weniger eindeutige Tendenz des Melanin- Indexes erkennbar. Auf der Farbtafel *braun* zeigt sich bis zur Helligkeitsabstufung 4 eine steigende Tendenz des Melanin- Indexes mit anschließendem Abfall der Werte in den Reihen B bis I. Auch auf der Farbtafel *bunt* ist keine Tendenz zwischen den Farbreihen erkennbar. B*2 und B*4 weisen fast identische Melanin- Indices auf, welche niedriger sind als die Werte von B*3, und C*5 weist einen höheren Melanin- Index auf als D*5.

Diese Schwankungen drücken sich auch in den Werten des Variationskoeffizienten aus. Das Mexameter liegt für alle Farbreihen mit Werten von durchschnittlich 0,31 % für Farbtafel *braun* und 0,28% für Farbtafel *bunt* im oberen Bereich der relativen Standardabweichung im Vergleich zu den restlichen Messgeräten.

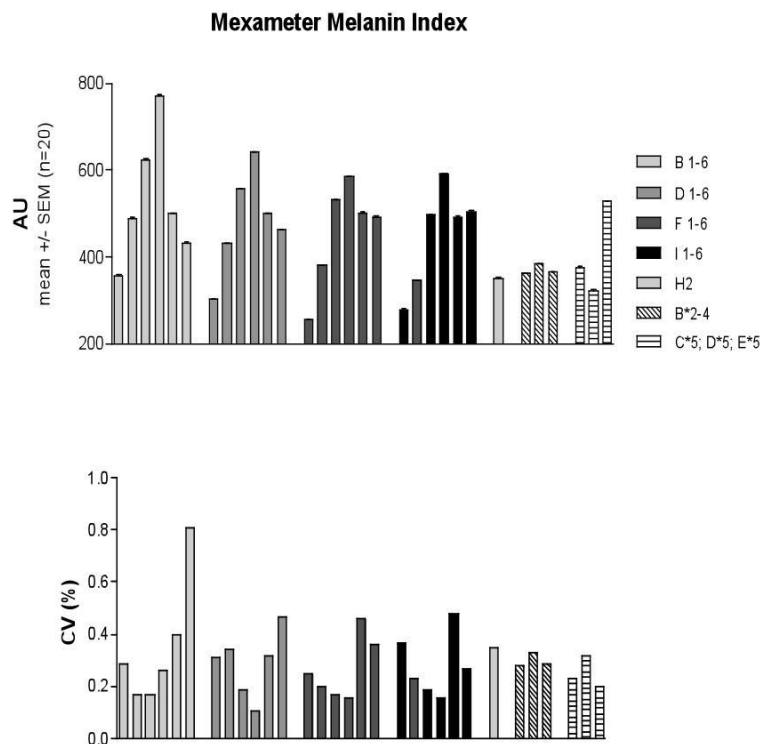


Abb. 39: Messergebnisse der *in vitro*- Studie mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für den Melanin- Index des Mexameters

Deutlich ist für alle Farbmessgeräte eine höhere Streubreite der Werte für Farben mit niedrigen L*- Werten bzw. hohem Melanin- Index. Insgesamt betrachtet liegen diese Werte jedoch in einem sehr niedrigen Bereich der relativen Standardabweichung, so dass man für alle Farbmessgeräte von einer präzisen Messtechnik ausgehen kann.

4.2 *in vivo*- Untersuchung

4.2.1 Probanden

An der Studie nahmen 20 hautgesunde männliche und weibliche Probanden teil. Das Alter der Probanden variierte zwischen 24 und 50 Jahren bei den männlichen Probanden, mit einem Mittelwert (\pm SD) bei 28,9 (\pm 8,7) Jahren und zwischen 22 und 49 Jahren bei den weiblichen Teilnehmern, bei einem Mittelwert von 27,3 (\pm 7,6) Jahren. Der Altersunterschied zwischen beiden Geschlechtern war mit $p = 0,6796$ nicht signifikant.

	N	Mittelwert	Umfang
Männlich	8	28,9	24-50
Weiblich	12	27,3	22-49
Gesamt	20	27,95	22-50
Männlich vs Weiblich	2 : 3	$p=0,6796$	

Tab. 2 : Soziografische Daten

4.2.2 Raumbedingungen

Die Messungen fanden im hautphysiologischen Labor der Klinik für Dermatologie und Allergologie der FSU Jena statt. Sie erfolgten unter Normlicht, bei einer Raumtemperatur von durchschnittlich 20,45 °C zu Beginn der Messungen und 20,85 °C nach vier Stunden. Der Temperaturunterschied war bei $p = 0,2019$ nicht signifikant. Auch die Luftfeuchte, im Mittel zwischen 38,7 und 38,9 % unterschied sich während der gesamten Messzeit nicht signifikant bei einem p von 0,8904.

	Luft- feuchte % Basis- messung	Luft- feuchte % 4h	Temp. °C Basis- messung	Temp. °C 4h
Mittelwert	38,70	38,90	20,45	20,85

Tab. 3: Mittelwerte der Luftfeuchte und Raumtemperatur zu Studienbeginn und nach 4 Stunden

4.2.3 Irritationsscore

Der Irritationsscore wurde auf den vier Messfeldern vor Beginn der Messungen, nach vier Stunden und auf dem Testfeld TS auch nach 20 Abrissen mit D-Squames bestimmt. Die verschiedenen Komponenten Erythem, Rauigkeit, Schuppung, Ödem und Fissuren wurden dabei betrachtet, Punkte von 0 bis 3 vergeben und diese anschließend für jedes Testfeld addiert. So entstand ein Irritationsscore von min. 0 auf allen vier Feldern zu Studienbeginn bis max. 3,0 auf dem SLS- Testfeld nach vier Stunden Einwirkzeit der Lösung.

Auf dem Kontrollfeld gab es keine Veränderungen des Irritationsscores. Er ergab zu Studienbeginn für alle Probanden 0 Punkte und bei der zweiten Betrachtung am Ende

ebenfalls 0 Punkte. Das zeigt, dass keine ungewollten irritativen Einflüsse und Störfaktoren während der Studie auftraten, welche die Messungen hätten beeinflussen können.

Auf dem H₂O- Feld war der Irritationsscore zu Beginn der Studie für alle Probanden gleich 0. Nach vierstündiger Einwirkung von destilliertem Wasser unter Okklusion ergab der Score Werte von 0 bis 1 mit einem Mittelwert von $0,45 \pm 0,22$. Die Veränderungen auf diesem Feld waren signifikant mit $p < 0,0001$ und $t = 9,00$.

Für des TS- Feld wurden insgesamt drei Scores erstellt. Zu Beginn waren die Werte für alle Probanden ebenfalls gleich 0, nach 20 Abrissen wurden Werte zwischen 0 und 2 erreicht, mit einem Mittelwert von $0,65 \pm 0,43$. Diese Veränderung war signifikant mit $p < 0,0001$ und $t = 6,73$. Nach vier Stunden ohne Einwirkung jeglicher Irritantien wurde erneut der Irritationsscore auf dem TS- Feld bestimmt. Er ergab Werte zwischen 0 und 0,5 mit einem Mittelwert von $0,25 \pm 0,25$ und hatte sich bei $p = 0,0013$ und $t = 3,76$ erneut signifikant verändert. Auch im Vergleich des Scores zu Beginn der Studie mit dem Wert nach vier Stunden war ein signifikanter Unterschied von $p = 0,0003$ und $t = 4,359$ erkennbar.

Auf dem SLS- Feld wurden Werte von 0 zu Studienbeginn für alle Probanden genommen, und nach vierstündiger Einwirkzeit von SLS 2% unter Okklusion zeigte der Irritationsscore eine Spannweite von 0,5 bis 3,0 mit einem Mittelwert von $1,2 \pm 0,59$. Er unterschied sich mit $p < 0,0001$ und $t = 9,04$ signifikant vom Ausgangswert.

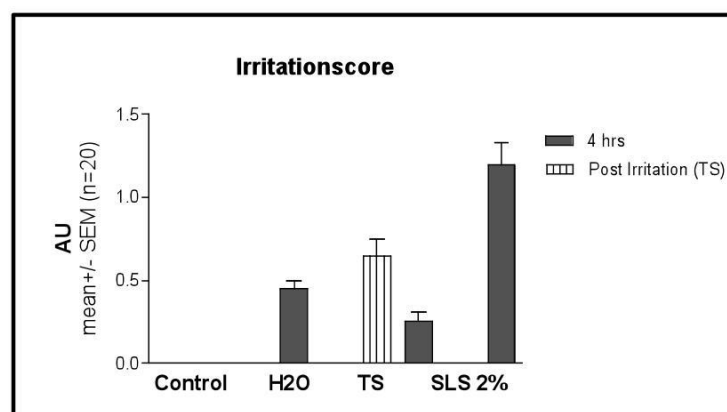


Abb. 40: Veränderungen im Irritationsscore mit Mittelwerten zwischen 0,0 und 1,2 auf den vier Feldern Kontrolle, H₂O, TS und SLS im Verlauf der Studie

4.2.4 Basismessung

Die Basismessungen wurden bei allen Probanden vor Induktion einer Hautirritation auf den drei Testfeldern, sowie auf dem unbehandelten Kontrollfeld durchgeführt. Neben dem Tewameter und dem Corneometer, die lediglich eine intakte Barrierefunktion aufzeigen sollten, kamen die Farbmessgeräte Mexameter MX 18, Chromameter 200 und 300, Spectropen und Colorimeter zum Einsatz. Abgesehen vom Mexameter, dessen Aufbau und Funktion auf dem Prinzip der Absorption und Reflexion beruht, geben die anderen vier Farbmessgeräte ihre Daten mit Hilfe des Lab-Systems an. Für diese Studie waren vor allem die Werte für L^* und a^* wichtig, da sie ein Maß für die Helligkeit bzw. Pigmentierung und für die Hautrötung sind.

Die Basismessungen wurden durchgeführt, um sicher zu gehen, dass eventuell bestehende Unterschiede in der Pigmentierung und der Hautrötung der einzelnen Testfelder nicht signifikant sind, damit gleiche Bedingungen für die verschiedenen Formen der Hautirritation angenommen werden können.

Eine einfaktorielle ANOVA wurde hinsichtlich der Pigmentierung für die L^* -Werte der Chromameter 200 und 300, des Spectropens und des Colorimeters und für den Melanin-Index des Mexameters berechnet. Keines der fünf Messgeräte zeigte signifikante Unterschiede in der Pigmentierung der vier Messfelder auf.

<u>Pigmentierung</u>	ANOVA	
	Basiswerte	
	P-value	F-value
Mexa Mel	0.8472	0.2693
Spectro L	0.8937	0.2033
Chroma200 L	0.9549	0.1084
Chroma300 L	0.9041	0.1881
Colorimeter L	0.8782	0.2255

Tab. 4: P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA für die Basiswerte der Hautpigmentierung auf allen Testfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Weiterhin wurde eine einfaktorielle ANOVA bezüglich der Hautrötung durchgeführt. Dabei wurden die a^* -Werte, bzw. der Erythem-Index des Mexameters miteinander verglichen. Auch hier gab es, abgesehen vom Colorimeter, keine signifikanten Unterschiede. Allein beim Colorimeter fand sich für die Hautrötung ein signifikanter Unterschied zwischen den vier Messfeldern mit $p = 0,0489$. Allerdings ergab die Varianzanalyse einen F-Wert von 2,79, welcher unterhalb der signifikanten Grenze von $F = 3,13$ für vier Gruppen und 19 Freiheitsgraden liegt, so dass angenommen werden kann, dass die Unterschiede im Rahmen der natürlichen Schwankungen liegen und nicht relevant für die Beurteilung der Hautrötung nach Irritation sind.

<u>Erythem</u>	ANOVA	
	Basiswerte	
	P-value	F-value
Mexa Ery	0.4675	0.8953
Spectro a	0.0969	2.209
Chroma200 a	0.2151	1.536
Chroma300 a	0.1704	1.733
Colorimeter a	0.0489	2.785

Tab. 5: P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA für die Basiswerte der Hautrötung auf allen Testfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

4.2.5 Induktion der Hautrötung durch Tapestripping

Durch mechanische Entfernung der obersten Zellschichten der Haut mit Hilfe von D-Squames kam es zu einer Hautreizung mit Störung der Barrierefunktion und Induktion eines Erythems aufgrund reflektorischer Vasodilatation. Diese Veränderung der Hautrötung nach 20 Abrissen wurde mit Hilfe der fünf Farbmessgeräte erfasst und ein t-Test für deren Werte durchgeführt.

Weiterhin wurde geprüft, wie es sich nach dieser mechanischen Art der Hautirritation mit der Pigmentierung des entsprechenden Hautareals verhält und für diese Werte wurde ebenfalls ein t- Test angewandt.

Bezüglich des Melaningehalts erfassten abgesehen vom Colorimeter alle anderen Farbmessgeräte eine signifikante Veränderung auf dem TS-Feld unmittelbar nach erfolgter Irritation in Form einer Aufhellung mit höheren L*- Werten, bzw. einer Abnahme des Melanin- Indexes beim Mexameter. Unter Betrachtung der Varianzanalyse ergab sich für das Mexameter das beste Ergebnis im Aufzeigen einer unterschiedlichen Pigmentierung, gefolgt vom Spectropen, Chromameter 300 und anschließend vom Chromameter 200. „Schlusslicht“ bildet das Colorimeter, welches mit einem p von 0,3217 keine signifikante Veränderung aufzeigte.

<u>Pigmentierung</u>	T- Test Base vs a20TS					
Device	Mean Base	SD	Mean a20TS	SD	P- value	t- value
Mexa Mel	123.1	24.37	105.8	24.95	<0.0001	11.61
Spectro L	64.14	3.812	65.22	3.800	0.0003	4.483
Chroma 300 L	66.56	2.749	67.29	2.431	0.0080	2.962
Chroma 200 L	65.85	2.621	66.54	2.289	0.0164	2.634
Colorimeter L	69.18	7.620	69.44	7.684	0.3217	1.018

Tab. 6: Ergebnisse der Basismessungen im Vergleich zu den Messungen nach 20 Abrissen für L* bzw. den Melanin- Index auf dem TS- Feld mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD) und der P- und t- Werte des T-Tests mit einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, n = 20

Eine signifikante Veränderung der Hautrötung in Form einer Zunahme des Erythems unmittelbar nach Tapestripping konnte nur durch das Colorimeter mit $p = 0,0068$ und $t = 3,036$ erfasst werden.

Erythem Device	T- Test Base vs a20TS					
	Mean Base	SD	Mean a20TS	SD	P- value	t-value
Colorimeter a	11.50	2.160	12.22	2.350	0.0068	3.036
Chroma 200 a	6.549	1.616	7.136	1.544	0.0974	1.743
Chroma 300 a	7.377	1.512	7.997	1.444	0.1019	1.719
Spectro a	2.305	1.241	2.583	1.236	0.1767	1.403
Mexa Ery	208.3	53.90	208.3	47.15	1.0000	0.000

Tab. 7: Ergebnisse der Basismessungen im Vergleich zu den Messungen nach 20 Abrissen für a* bzw. den Erythem- Index auf dem TS- Feld mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD) und der P- und t- Werte des T-Tests mit einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Nach einer Erholungsphase von vier Stunden wurden erneut Messungen auf dem TS- Feld durchgeführt, um die Ausprägung der Pigmentierung und Hautrötung zu ermitteln. Diese wurden zum einen mit den Messungen direkt nach Tapestripping und zum anderen mit den Basismessungen jeweils mittels t-Test verglichen.

In Bezug auf die Pigmentierung ist eine Zunahme des Melaniningehalts innerhalb von vier Stunden in Form einer signifikanten Abnahme der Helligkeit L* bzw. Zunahme des Melanin-Indexes mit fast allen Farbmessgeräten nachweisbar. Allein das Colorimeter konnte mit $p = 0,3210$ keine signifikante Veränderung wiedergeben. Am besten gelang dieser Nachweis mit dem Chromameter 200 mit $p \leq 0.0001$ und $t = 5,898$, gefolgt vom Mexameter, dem Spectropen und dem Chromameter 300.

Eine signifikante Veränderung der Hautrötung innerhalb der vier Stunden, repräsentiert durch den a*- Wert bzw. den Erythem- Index, konnte mit keinem Farbmessgerät nachgewiesen werden.

Pigmentierung Device	T-Test a20TS vs 4h					
	Mean a20TS	SD	Mean 4h	SD	P- value	t-value
Chroma 200 L	66.54	2.289	65.44	2.023	<0.0001	5.898
Mexa Mel	105.8	24.95	117.4	23.58	<0.0001	5.765
Spectro L	65.22	3.800	64.18	3.541	0.0001	4.835
Chroma 300 L	67.29	2.431	66.27	2.172	0.0003	4.465
Colorimeter L	69.44	7.684	67.35	5.568	0.3210	1.019

Tab. 8: Ergebnisse des T-Tests für die Messungen direkt nach Tapestripping im Vergleich zu den Messungen nach vier Stunden auf dem TS-Feld für L* bzw. den Melanin- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t- Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Erythem	T-Test a20TS vs 4h					
Device	Mean a20TS	SD	Mean 4h	SD	P- value	t-value
Mexa Ery	208.3	47.15	222.6	44.29	0.0560	2.036
Colorimeter a	12.22	2.350	11.49	1.200	0.1075	1.689
Spectro a	2.583	1.236	2.465	1.102	0.4470	0.7766
Chroma 300 a	7.997	1.444	8.079	1.312	0.7839	0.2781
Chroma 200 a	7.136	1.544	7.166	1.447	0.8981	0.1298

Tab. 9: Ergebnisse des T-Tests für die Messungen direkt nach Tapestripping im Vergleich zu den Messungen nach vier Stunden auf dem TS-Feld für a* bzw. den Erythem-Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t- Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Ein Vergleich zwischen den Basismessungen und den Werten nach vierstündiger Erholungsphase zeigte im Bezug auf die Pigmentierung allein beim Mexameter einen signifikanten Unterschied in Form einer Abnahme des Melaningehalts auf, mit $p = 0.0017$. Die L*- Werte der anderen Farbmessgeräte konnten diese Pigmentverminderung nicht wiedergeben. Bei ihnen glichen die Messdaten nach der Irritation den Werten der Basismessungen.

Pigmentierung	T-Test Base vs 4h					
Device	Mean Base	SD	Mean 4h	SD	P- value	t-value
Mexa Mel	123.1	24.37	117.4	23.58	0.0017	3.651
Chroma 200 L	65.85	2.621	65.44	2.023	0.0824	1.833
Chroma 300 L	66.56	2.749	66.27	2.172	0.2509	1.184
Colorimeter L	69.18	22.828	67.35	5.568	0.3678	0.9225
Spectro L	64.14	3.812	64.18	3.541	0.8626	0.1754

Tab. 10: Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem TS- Feld für L* bzw. den Melanin- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Bei dem Vergleich der Hautrötung zu Beginn der Studie und nach vierstündiger Erholungsphase nach Hautirritation mittels Tapestripping konnten signifikante Unterschiede von drei Farbmessgeräten erfasst werden. Das Chromameter 300, 200 und das Mexameter zeigten eine weiterhin deutlich bestehende Hautrötung im Vergleich zu den Ausgangswerten.

Die Unterschiede, welche vom Spectropen und dem Colorimeter erfasst wurden, waren mit $p = 0,1767$ für den a^* -Wert des Spectropens und $p = 0,9847$ für den a^* -Wert des Colorimeters nicht signifikant.

Erythem Device	T-Test Base vs 4h					
	Mean Base	SD	Mean 4h	SD	P- value	t-value
Chroma 300 a	7.377	1.512	8.079	1.312	0.0009	3.944
Chroma 200 a	6.549	1.616	7.166	1.447	0.0034	3.348
Mexa Ery	208.3	53.90	222.6	44.29	0.0200	2.540
Spectro a	2.305	1.241	2.465	1.102	0.1739	1.413
Colorimeter a	11.50	2.160	11.49	1.200	0.9847	0.0194

Tab. 11: Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem TS-Feld für a^* bzw. den Erythem- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Schlussendlich wurde für das TS- Feld eine ANOVA für die L^* -Werte/ Melanin- Index und a^* - Werte/ Erythem- Index jedes Farbmessgerätes durchgeführt, bei der die Basismessungen, die Daten nach 20 Abrissen sowie die Vier- Stunden- Werte einbezogen wurden.

Bei der Datenanalyse der Pigmentierungsausprägung zu den drei Messzeiten ergaben sich signifikante Unterschiede für alle Farbmessgeräte außer für das Colorimeter mit $p = 0,3962$ und $F = 0,9487$. Den höchsten F- Wert erreichte bei dieser Berechnung das Mexameter mit $F = 49,99$ bei $p \leq 0,0001$, gefolgt vom Spectropen, dem Chromameter 200 und dem Chromameter 300.

Pigmentierung Device	ANOVA TS	
	F-value	P-value
Mexa Mel	49.99	< 0.0001
Spectro L	14.33	< 0.0001
Chroma 200 L	12.10	< 0.0001
Chroma 300 L	9.647	0.0004
Colorimeter L	0.9487	0.3962

Tab. 12: Ergebnisse der ANOVA für die Messungen der Pigmentierung auf dem TS-Feld zu den drei Messzeiten Basismessung, a20TS und 4h mit Angaben der F- und p-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ und einer Signifikanzgrenze $F = 3,52$ bei drei Gruppen und 19 Freiheitsgraden, $n=20$

Die ANOVA für die Erythemausprägung zu den drei Messzeiten zeigte nur für zwei der fünf Farbmessgeräte signifikante Unterschiede an. Die Analyse ergab für das Chromameter 200 ein p von 0,0362 mit $F = 3,626$ und für das Chromameter 300 $p = 0,0386$ und $F = 3,550$. Die p-Werte der ANOVA für die anderen Farbmessgeräte lagen unter dem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$.

<u>Erythem</u> Device	ANOVA TS	
	F-value	P-value
Chroma 200 a	3.626	0.0362
Chroma 300 a	3.550	0.0386
Mexa Ery	2.615	0.0863
Colorimeter a	2.573	0.0896
Spectro a	1.553	0.2248

Tab. 13: Ergebnisse der ANOVA für die Messungen der Hautrötung auf dem TS- Feld zu den drei Messzeiten Basismessung, a20TS und 4h mit Angaben der F- und p-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ und einer Signifikanzgrenze $F = 3,52$ bei drei Gruppen und 19 Freiheitsgraden, $n=20$

4.2.6 Provokation der Hautirritation durch SLS

Eine Störung der Barrierefunktion und eine Veränderung der Hornschichtfeuchtigkeit konnte mit Hilfe des Tewameters und des Corneometers nachgewiesen werden und wurde im Abschnitt 3. *Materialien und Methoden* besprochen. Alle Farbmessgeräte konnten beim Vergleich des Pigmentierungsgrades dieses Hautareals vor und nach Behandlung mit SLS einen signifikanten Unterschied erfassen. Auch bei der Veränderung der Hautrötung in diesem Bereich ließ sich für die Mehrheit der Farbmessgeräte ein signifikanter Unterschied in den beiden Messungen nachweisen. Allein das Colorimeter vermochte die Zunahme des Erythems nicht als signifikant darzustellen, wobei jedoch eine Tendenz bei $p = 0,0527$ und $t = 2,067$ erkennbar ist.

<u>Pigmentierung</u> Device	T-Test Base vs 4h					
	Mean Base	SD	Mean 4h	SD	P- value	t-value
Mexa Mel	126.1	26.17	110.2	29.25	<0.0001	5.799
Chroma 200 L	66.02	3.052	64.61	2.449	0.0015	3.701
Chroma 300 L	66.69	3.072	65.60	2.398	0.0040	3.278
Spectro L	64.07	3.938	63.3	3.286	0.0272	2.393
Colorimeter L	69.29	7.307	65.62	2.516	0.0425	2.174

Tab. 14: Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem SLS-Feld für L* bzw. den Melanin- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

<u>Erythem</u> Device	T-Test Base vs 4h					
	Mean Base	SD	Mean 4h	SD	P- value	t-value
Chroma 200 a	6.734	1.713	8.851	2.108	<0.0001	5.160
Chroma 300 a	7.627	1.699	9.539	2.071	0.0001	4.868
Mexa Ery	214.7	56.30	263.9	59.17	0.0004	4.330
Spectro a	2.438	1.325	3.530	1.265	0.0004	4.301
Colorimeter a	11.66	2.037	12.45	1.397	0.0527	2.067

Tab. 15: Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem SLS-Feld für a* bzw. den Erythem- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

4.2.7 Einfluss von H₂O unter Okklusion auf Pigment und Erythem

Mit Hilfe des Tewameters und des Corneometers konnte im Vorfeld eine Störung der Barrierefunktion bzw. eine Veränderung der Hornschichtfeuchtigkeit durch die Applikation von H₂O unter Okklusion nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse wurden bereits im Abschnitt 3. *Materialien und Methoden* beschrieben. In Bezug auf die Pigmentierung zeigte sich ein signifikanter Unterschied allein bei den Messergebnissen der Chromameter 200 und 300, im Vergleich Basiswert und 4h- Wert.

Pigmentation Device	T-Test Base vs 4h					
	Mean Base	SD	Mean 4h	SD	P- Value	t-Value
Chroma 200 L	65.91	3.028	65.42	2.413	0.0278	2.383
Chroma 300 L	66.69	3.161	66.11	2.588	0.0308	2.332
Colorimeter L	69.15	7.859	66.00	2.478	0.0720	1.950
Mexa Mel	123.4	27.76	124.0	27.86	0.8000	0.2570
Spectro L	64.22	4.201	64.25	3.901	0.8700	0.1658

Tab. 16: Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem H2O- Feld für L* bzw. den Melanin- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t- Werte und P- Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Für die Hautrötung ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen dem Basiswert und den Ergebnissen nach vier Stunden für das Chromameter 200 mit $p = 0,0122$ und $t = 2,769$ und den Spectropen mit $p = 0,0278$ und $t = 2,383$. Eine Erhöhung des Erythemwertes konnte durch die anderen Messgeräte nicht signifikant erfasst werden.

Erythem Device	T-Test Base vs 4h					
	Mean Base	SD	Mean 4h	SD	P- Value	t-Value
Chroma 200 a	6.307	1.661	7.026	1.498	0.0122	2.769
Spectro a	2.122	1.335	2.525	1.075	0.0278	2.383
Mexa Ery	204.3	54.62	218.1	47.63	0.0597	2.002
Chroma 300 a	7.204	1.649	7.852	1.539	0.0715	1.909
Colorimeter a	11.08	2.020	11.05	1.220	0.9393	0.0772

Tab. 17: Ergebnisse des T- Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem H2O- Feld für a* bzw. den Erythem- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t- Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

4.2.8 Vergleich der Testfelder nach vier Stunden

Nach erfolgter Irritation mittels Tapestripping, H₂O und SLS wurde abschließend eine ANOVA für die drei Testfelder und das unbehandelte Kontrollfeld durchgeführt, um einen Vergleich wie zu Beginn der Untersuchungen herstellen zu können. Zu erwarten war ein signifikanter Unterschied in Bezug auf Pigmentierung und Hautrötung zwischen den einzelnen irritierten Feldern und dem unbehandelten Kontrollfeld, da unterschiedliche

Irritantien appliziert wurden, bzw. auf dem Kontrollfeld keine Irritation stattfand und demnach keine signifikante Veränderung auf diesem Hautareal zu erwarten war.

Bezüglich des Melaningehalts erfassten drei der fünf Farbmessgeräte einen signifikanten Unterschied zwischen den vier Messfeldern. Am besten gelang dieser Nachweis mit dem Mexameter bei einem p von 0,0002 und $F = 7,816$, gefolgt vom Spectropen mit $p = 0,0134$ und $F = 3,888$ und dem Chromameter 200 mit $p = 0,0193$ und $F = 3,578$. Das Chromameter 300 und das Colorimeter konnten diesen Unterschied nicht signifikant nachweisen.

<u>Pigmentation</u>	ANOVA	
	4h	
Device	P-value	F-value
Mexa Mel	0.0002	7.816
Spectro L	0.0134	3.888
Chroma 200 L	0.0193	3.578
Colorimeter L	0.1508	1.837
Chroma 300 L	0.1921	1.632

Tab. 18: P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA der Messwerte nach 4 Stunden für L^* bzw. den Melanin- Index auf allen Messfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

Bei dem Vergleich der Hautrötung auf den vier Messfeldern konnten alle Farbmessgeräte einen signifikanten Unterschied aufzeigen. Unter Betrachtung der F- Werte gelang dem Chromameter 200 dieser Nachweis am besten, mit $p \leq 0,0001$ und $F = 16,47$.

<u>Erythem</u>	ANOVA	
	4h	
Device	P-value	F-value
Chroma 200 a	<0.0001	16.47
Mexa Ery	<0.0001	12.93
Spectro a	<0.0001	12.86
Chroma 300 a	<0.0001	11.54
Colorimeter a	0.0002	7.985

Tab. 19: P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA der Messwerte nach 4 Stunden für a^* bzw. den Erythem- Index auf allen Messfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

4.3 Vergleich der Messgenauigkeit der Farbmessgeräte im Helligkeits- und Erythembereich der menschlichen Haut

Wie bereits beschrieben wurde, schwankt die Messgenauigkeit der einzelnen Messgeräte in Abhängigkeit von Helligkeit und Rotanteil der Farbe in Form einer Zunahme der relativen Standardabweichung bei Abnahme der L^* - und a^* - Werte.

Daher ist es wichtig, herauszufinden, wie sich die Variationskoeffizienten bei Farben verhalten, die dem Erythem- und Pigmentierungsgrad der Haut ähneln. Dazu werden die Mittelwerte der Basismessungen auf den vier Messfeldern aller Probanden zusammengefasst und diese mit den durchschnittlich erreichten Werten auf den Farbtafeln verglichen. Anschließend kann man mit Hilfe der entsprechenden Variationskoeffizienten in diesen Bereichen Rückschlüsse auf die Messgenauigkeit der Farbmessgeräte in der *in vivo*-Untersuchung ziehen.

Bei der Basismessung der Hautrötung ergab sich ein durchschnittlicher Erythem- Index des Mexameters von 210, das Colorimeter zeigte a^* - Werte im Bereich von 12, der Spectropen maß a^* -Werte von circa 2 und die Chromameter 200 und 300 erreichten Erythemwerte von 6,5 bis 7,5, zusammengefasst für die drei Testfelder und das Kontrollfeld aller Probanden.

Der Vergleich dieser Ergebnisse mit denen der *in vitro*- Untersuchung hat für die Erythemwerte der Basismessung gezeigt, dass abgesehen von den Ergebnissen des Spectropens die durchschnittlich erreichten Messwerte auf dem Farbfeld C*5 der Farbtafel *bunt* denen der Unterarminnenseite der Probanden ähneln.

Diese Übereinstimmung bleibt auch für das Chromameter 200 und 300 für die Messungen auf dem TS- Feld nach Tapestripping, sowie nach vier Stunden Erholungsphase und für die Messung nach Einwirkung von H_2O bestehen. Für das Mexameter ergibt sich für die Messung dieser Farbe C*5 ein CV von 0,4 %, für das Colorimeter 0,36 %, für das Chromameter 200 0,26 % und für das Chromameter 300 0,25 %.

Das Chromameter 300 erreicht damit die höchste Messgenauigkeit in diesem Farbbereich. Der Spectropen zeigt der Hautrötung entsprechend ähnliche Werte bei der Farbe B5, welche mit Variationskoeffizienten von 3,34 % einhergeht.

Basismessung Erythem	<i>in vivo</i> Mittelwert	<i>in vitro</i>		CV %
		Farbe	Mittelwert	
Chromameter 300 a	7,47	C*5	8,16	0,25
Chromameter 200 a	6,58	C*5	7,55	0,26
Colorimeter a	11,51	C*5	11,46	0,36
Mexameter Erythem	210	C*5	206	0,4
Spectropen a	2,33	B5	2,93	3,34

Tab. 20: *in vivo*- Mittelwerte und vergleichbare *in vitro*- Mittelwerte der Farben von Farbtafel *braun* und *bunt* mit entsprechendem Variationskoeffizienten in % für die Basismessung Erythem

Wenn man die Werte nach den verschiedenen Hautreizungen mit denen der Farbtafeln vergleicht, variieren zwar die Übereinstimmungen zwischen den *in vivo*- Daten und den Ergebnissen der Farbfelder, doch was die Messgenauigkeit der Farbmessgeräte betrifft, so ist doch ein fast einheitliches Muster erkennbar. Die geringste relative Standardabweichung wird zu allen mit den Messzeitpunkten vergleichbaren Farben vom Chromameter 300 erreicht, gefolgt vom Chromameter 200, dem Mexameter, dem Colorimeter und schließlich dem Spectropen.

Die durchschnittlichen Werte der Hautpigmentierung liegen beim Mexameter bei 124, beim Colorimeter 69, für den L*- Wert des Spectropens ergibt sich ein Wert von 64, und die Chromameter 200 und 300 erreichen Werte im Bereich von 66 bzw. 67.

Abgesehen von einer Abweichung des Colorimeter L*- Wertes nach Tapestripping und den Melanin- Indices des Mexameters sind die Werte der Hautpigmentierung zur Basismessung, sowie nach den einzelnen Irritationen mit der Farbe B*2 der Farbtafel *bunt* vergleichbar. Zwar bestehen geringe Unterschiede zwischen den Ergebnissen der drei Testareale bzw. den Messzeiten, jedoch werden auf den Farbtafeln diese feinen Nuancen zwischen den einzelnen Farben nicht dargestellt, so dass die Farbe B*2 am ehesten die Pigmentierung der Haut der Probanden auch nach Reizung mittels Tapestripping, SLS und H₂O unter Okklusion widerspiegelt und von den Messgeräten Colorimeter, Spectropen, Chromameter 200 und 300 erfasst wird. Der Vorteil darin ist, dass sich so die Variationskoeffizienten gut vergleichen lassen.

Für das Chromameter 200 ergibt sich hier eine relative Standardabweichung von 0,02 %, für das Colorimeter ein CV von 0,04 %, die Werte des Chromameters 300 gehen mit einem CV

von 0,06 % einher und die L*- Werte des Spectropens haben eine Streubreite von 0,22 % bei der Messung der Farbe B2. Die einzige Abweichung besteht für den L*- Wert des Colorimeters nach Tapestripping. Hier ist der Wert von durchschnittlich 69,5 am ehesten mit dem Messwert der Farbe D*5 vergleichbar, mit einem dazugehörigen CV von 0,02 %. Dem Melanin- Index des Mexameters entspricht am ehesten der Helligkeitsbereich der Farbe F1 der Farbtafel *braun* mit einem CV von 0,25 %, wobei immer noch eine recht große Differenz zwischen dem Durchschnittswert von 124 der *in vivo*- Daten und dem mittleren Wert von 256 der Farbe F1 herrscht. Es wurde jedoch keine Farbe gemessen, die einen niedrigeren Melanin- Index aufweist, so dass, wenn überhaupt ein Vergleich stattfinden kann, auf die Farbe F1 zurückzukommen ist.

Pigmentierung	<i>in vivo</i> Mittelwert	<i>in vitro</i>		CV %
		Farbe	Mittelwert	
Chromameter 200 L	65,57	B*2	63,93	0,02
Colorimeter L	67,56	B*2	65,96	0,04
Chromameter 300 L	66,42	B*2	64,79	0,06
Spectropen L	64,22	B*2	64,03	0,22
Mexameter Melanin	124	F1	256	0,25

Tab. 21: *in vivo*- Mittelwerte und vergleichbare *in vitro*- Mittelwerte der Farben von Farbtafel *braun* und *bunt* mit entsprechendem Variationskoeffizienten in % für die Messung der Pigmentierung

Insgesamt gesehen kann man trotz einiger Differenzen von einer hohen Messgenauigkeit sowohl im Erythem- als auch im Helligkeitsbereich für alle verwendeten Messgeräte ausgehen, was eine optimale Basis für die Auswertung der *in vivo*- Untersuchung darstellt.

5. Diskussion

Ziel der Untersuchungen war es, fünf Farbmessgeräte auf ihre Sensitivität bezüglich verschiedener milder Hautirritationen zu testen. Die Testreihe wurde an 20 hautgesunden Probanden durchgeführt. Zuvor waren die Farbmessgeräte in einer *in vitro*- Untersuchung an zwei Farbtafeln auf ihre Messgenauigkeit getestet worden, um die Ergebnisse der *in vivo*- Untersuchung differenzierter betrachten zu können.

5.1 *in vitro* - Untersuchung

Anhand des Variationskoeffizienten konnte eine Reihenfolge bezüglich der diskriminierenden Fähigkeit der Farbmessgeräte für die *in vitro*- Untersuchung erstellt werden. Für die a^* -Werte zeigte sich folgendes Ergebnis in absteigender Reihenfolge: Chromameter 300 > Chromameter 200 > Mexameter Erythem > Colorimeter > Spectropen. In Bezug auf die L^* -Werte gelang dem Chromameter 200 die beste Diskriminierung, gefolgt vom Colorimeter > Chromameter 300 > Spectropen > Mexameter Melanin. Es hat sich gezeigt, dass vor allem die Chromameter 200 und 300 sowohl für den a^* - Wert, als auch den L^* - Wert präzise Werte mit geringer Streubreite messen, gefolgt vom Colorimeter.

Clarys et al. verglichen in einer Studie von 2000 die Farbmessgeräte Mexameter MX 16, Dermaspectrometer und Chromameter 200 in einer *in vitro*- Untersuchung auf standardisierten Farbtafeln und kamen ebenfalls zu dem Ergebnis einer hohen Sensitivität bezüglich der Messwiederholungen mit niedrigem Variationskoeffizienten für die Werte der drei Messgeräte (Clarys et al. 2000).

Insgesamt gesehen weisen alle, in der vorliegenden Untersuchung getesteten Farbmessgeräte einen geringen Variationskoeffizienten bei den *in vitro*- Messungen auf, was eine optimale Voraussetzung für die *in vivo*- Untersuchung ist. Bei Veränderungen der Messwerte während der *in vivo*- Messungen kann dadurch eine mögliche Fehlerquelle durch hohe Streubreite der Werte ausgeschlossen werden.

5.2 Probanden

An den *in vivo*- Untersuchungen nahmen insgesamt 20 männliche und weibliche Probanden teil. Es gibt unterschiedliche Auffassungen darüber, ob geschlechtsspezifische Unterschiede in hautphysiologischen Veränderungen bei Reizung mit SLS bestehen. In einigen Studien konnten geringe Abweichungen festgestellt werden (Serup et al. 2006), in anderen, wie zum Beispiel einer Studie von Lammintausta et al. (1987), konnte kein Unterschied der hautphysiologischen Veränderungen auf Irritation bei beiden Geschlechtern nachgewiesen werden. Männliche und weibliche Probanden waren in einem Verhältnis von 2 : 3 (acht männliche und 12 weibliche Teilnehmer) in der Studie vertreten.

5.3 Irritation mit SLS 2 %

Wie in einigen Studien, unter anderem von Branco et al. (2005) und Fluhr et al. (Fluhr et al. 2005d) gezeigt werden konnte, stellen Verfahren wie die Beurteilung des Irritationsscores, sowie die Messung des TEWL und der Kapazität des Stratum Corneum präzise Möglichkeiten dar, um eine Schädigung der Barrierefunktion der Haut und eine Veränderung in der Hornschichtfeuchtigkeit durch Irritation aufzuzeigen. Diese Hautirritation wird unter anderem durch Applikation von SLS hervorgerufen. Das Ausmaß der Irritation wird dabei von verschiedenen Faktoren beeinflusst, wie zum Beispiel Konzentration, Dauer der Applikation, Größe der Applikationsfläche und getestete Körperpartie. Inwieweit diese Schädigung auch zu einer Veränderung der Hautrötung und Pigmentierung führt, wurde 2001 in einer Studie von Fluhr et al. mit Hilfe der Farbmessgeräte Chromameter 200 und Mexameter MX16 bereits untersucht. Neben der Hautirritation mittels SLS fand hier auch eine Irritation durch Tapestripping statt, welche durch die Farbmessgeräte signifikant erfasst werden konnte (Fluhr et al. 2001). Das Verfahren des Tapestrippings findet ebenfalls Verwendung in hautphysiologischen Studien und wurde in einer Studie von Breternitz et al. (2006) bezüglich Art, Dauer und Anzahl der Abrisse standardisiert.

In der Studie von Fluhr et al. (2001) wurde u.a. SLS 2 % für eine Dauer von sechs Stunden unter Okklusion auf den Rücken appliziert und 15 Abrisse mittels Tapestripping durchgeführt. Die ersten Messungen nach Irritation fanden 24 Stunden später statt.

Deutliche Veränderungen der Barrierefunktion konnten für SLS 2% nur mit dem TEWL aufgezeigt werden. Als Grund dafür wird das lange Zeitintervall von 24 Stunden bei einem entsprechend schwachen Agens gesehen. In der vorliegenden Untersuchung, welche die Basis für die Dissertation darstellt, konnte ebenfalls eine signifikante Veränderung nach Einwirkung von SLS 2 % mittels Irritationsscore, TEWL und Messung der Hornschichtfeuchtigkeit im Sinne einer Barrierschädigung und Abnahme der Hydratation des Stratum Corneum erfasst werden.

Zudem ist der Unterschied zwischen der Basismessung und der Datenerhebung nach vierstündiger Einwirkung von SLS 2% bezüglich der Pigmentierung für die fünf Farbmessgeräte in folgender Abstufung der diskriminierenden Fähigkeiten signifikant erkennbar: Mexameter Melanin > Chromameter 200 L* > Chromameter 300 L* > Spectropen L* > Colorimeter L*. Nach Aussage von Piérard (1998) kann eine vermehrte Hautrötung zu einer Abnahme des Melanin- Indexes führen, da die Messung der erhöhten Reflexion von Wellenlängen im roten Farbspektrum durch Dilatation der Gefäße derjenigen Messung der Reflexion, welche durch die Chromophore der Epidermis verursacht wird, überwiegt. Dies kann die Abnahme der L*- Werte und des Melanin- Indexes erklären.

Obwohl die gleiche Konzentration des Agens verwendet wurde, wie in der Studie von Fluhr et al. (2001), war im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Studie von 2001 in der vorliegenden Untersuchung aufgrund des kurzen Zeitintervalls von 30 Minuten Akklimatisation nach abgeschlossener Einwirkdauer eine farbliche Veränderung im Sinne einer Zunahme der Hautrötung messbar. Wie auch in einer Studie von Andreassi und Flori (1995) gezeigt werden konnte, ist das Ausmaß der Irritation abhängig von der Konzentration und Einwirkdauer des Agens.

In Bezug auf die Hautrötung konnten abgesehen vom Colorimeter alle Farbmessgeräte eine Veränderung mit folgender Tendenz signifikant erfassen: Chromameter 200 a* > Chromameter 300 a* > Mexameter Erythem > Spectropen a* > Colorimeter a*. Die Ergebnisse für das Colorimeter zeigten einen p- Wert von 0,0527, was bezogen auf das Signifikanzniveau von 0,05 bedeutet, dass kein signifikanter Unterschied erkennbar ist. Da der Wert jedoch nur minimal oberhalb der festgelegten Grenze liegt, kann man davon

ausgehen, dass interindividuelle Faktoren dieses Ergebnis beeinflusst haben und das Erfassen eines signifikanten Unterschiedes nach dieser Art der Hautreizung durch das Colorimeter a* generell möglich ist.

5.4 Irritation mit TS

Wie schon erwähnt, gehört Tapestripping zu den standardisierten Methoden der Hautirritation durch Barrierschädigung und wird in vielen Studien eingesetzt (Chamlin et al. 2002, Ortiz et al. 2008, Pershing et al. 1992, Shah et al. 1998), denn es entfernt die obersten Zellschichten und stört somit massiv die Barrierefunktion, was auch in der vorliegenden Untersuchung mit Hilfe des TEWL nachgewiesen werden konnte. Auch der Irritationsscore änderte sich nach 20 Abrissen signifikant. Das Ausmaß der Änderung von Erythem nach Tapestripping ist jedoch geringer, als durch Reizung mit chemischen Substanzen, wie SLS, wie auch in der Studie von Fluhr et al. (2001) beschrieben. Aufgrund der Abtragung oberster Schichten von melaninspeichernden Korneozyten, was durch das Tapestripping erreicht wurde, kam es zu einer Abnahme der Pigmentierung mit Zunahme der L*- Werte bzw. einer Abnahme der Melanin- Indexes.

Eine ANOVA zeigte für die Pigmentierung in dieser Untersuchung eine eindeutige Diskriminierung für alle Farbmessgeräte mit folgender Tendenz: Mexameter Melanin > Spectropen > Chromameter 200 > Chromameter 300 > Colorimeter. Auch der T- Test von Basismessung und Messung nach 20 Abrissen mit D-Squames konnte die Barrierschädigung und somit signifikante Abnahme der Pigmentierung für alle Farbmessgeräte, abgesehen vom Colorimeter aufzeigen, mit folgender Reihenfolge der Diskriminierungsfähigkeit: Mexameter Melanin > Spectropen L > Chromameter 300 > Chromameter 200 > Colorimeter L. Dass nach dieser Hautreizung eine Erholung stattfand, wie in einer weiteren Studie von Fluhr et al. (Fluhr et al. 1999b) untersucht wurde, konnte auch hier nachgewiesen werden, da nur das Mexameter Melanin einen signifikanten Unterschied zwischen dem Basiswert und dem Wert nach vier Stunden erfassen konnte.

Was die Veränderung der Rötung betrifft, bestätigt sich die Aussage von Fluhr et al. (2001), die besagt, dass vorrangig eine Schädigung der Barrierefunktion durch Tapestripping stattfindet und eine Veränderung der Hautrötung weniger deutlich hervortritt, da eine ANOVA allein für die Chromameter 200 und 300, und ein T-Test Basismessung vs. Messung nach 20 Abrissen nur für das Colorimeter und das Chromameter 200 signifikante Unterschiede aufzeigte.

5.5 Einfluss von H₂O unter Okklusion

Wenn Wasser auf die Haut aufgetragen und anschließend okklusiv verschlossen wird, äußert sich dies nachfolgend in einem erhöhten TEWL, aufgrund der Abdunstung des gespeicherten Wassers nach Entfernen der okklusiven Kammer. Weiterhin kommt es kurzzeitig zu einer leichten Hyperhydratation der Hornschicht unter Einwirkung von destilliertem Wasser unter Okklusion, gefolgt von einer vermehrten Abgabe von Wasser mit Dehydratation der Hornschicht, welche mit dem Corneometer erfasst wurde. Zudem ließ sich eine signifikante Veränderung des Irritationsscores feststellen. Schon Tagami et al. (1982) untersuchten in einem „Sorption- Desorption Test“ die Eigenschaften des Stratum Corneum bezüglich der Aufnahme und Speicherfähigkeit von Wasser. Es zeigte sich, dass die oberen Schichten der Haut eine geringere Fähigkeit zur Aufnahme und Speicherung von Wasser haben, als tiefere Schichten, was zu einer Veränderung der Kapazität führte.

Die in der vorliegenden Untersuchung gemessenen Veränderungen konnten auch schon in einer Studie von Agache et al. (2001) erfasst werden. Im SDT (Sorption-Desorption Test) zeigte sich während der Desorptionsphase eine Erhöhung des TEWL und eine Abnahme der Kapazität des Stratum Corneum.

Fluhr et al. (Fluhr et al. 1999a) kamen jedoch zu dem Schluss, dass die Veränderungen der Hydratation des Stratum Corneum nur vorübergehend sind, da eine Beobachtung über einen längeren Zeitraum zeigte, dass es nicht zu einer Austrocknung der Hornschicht nach Einwirkung von Wasser unter Okklusion kam. Eine Barrierschädigung wurde auch hier durch eine Zunahme des TEWL erfasst. Eine Veränderung von Pigmentierung und Rötung

der betroffenen Haut ist dabei zu vernachlässigen. Lediglich eine Zunahme der a^* - Werte bzw. des Erythem- Indexes lässt sich dadurch erklären, dass durch einen verminderten Wassergehalt auch die Reflexion des Lichtes in der Hornschicht vermindert ist, wodurch der Einfluss der Reflexion tiefer liegender Chromophore verstärkt wird. Diese Veränderung von Erythem ist mit Hilfe der diskriminierenden Fähigkeit des Chromameters 200 und des Spectropens aufzuzeigen.

5.4 Vergleich der Ergebnisse *in vivo* und *in vitro*

In der *in vitro*- Untersuchung wurde deutlich, dass die Messgenauigkeit der Farbmessgeräte sowohl für die a^* - Werte, als auch für die L^* - Werte in einem Bereich von $CV < 5 \%$ liegt, was einer geringen relativen Standardabweichung entspricht und somit auf eine hohe Sensitivität schließen lässt. In Bezug auf die a^* - Werte stellte sich heraus, dass die *in vitro*- Werte, welche mit denen der Haut vergleichbar waren, alle in einem sehr niedrigen Bereich der relativen Standardabweichung lagen. Das unterstützt die Tatsache, dass diese Farbmessgeräte für den Einsatz in *in vivo*- Untersuchungen genutzt werden und mit der Sensitivität des Irritationsscores vergleichbar bzw. sogar überlegen sind.

Die geringste Streubreite in der *in vitro*- Untersuchung hatten die a^* - Werte des Chromameters 300, gefolgt von denen des Chromameters 200. In Betrachtung der diskriminierenden Fähigkeiten dieser Messgeräte in der *in vivo*- Untersuchung ist hier eine Übereinstimmung erkennbar. Sowohl auf den Farbtafeln, als auch bei der Erfassung der Irritation mittels Tapestripping und SLS zeigten diese Instrumente die beste Diskriminierung für die Hautrötung.

Bei der *in vitro*- Untersuchung folgt bezüglich der relativen Standardabweichung nach den a^* - Werten der Chromameter der Erythem-Index des Mexameters, welcher sich in den Werten kaum vom Colorimeter abhebt. Das Messgerät mit der größten relativen Standardabweichung für die Erythemwerte ist der Spectropen. Wenn man diese Reihenfolge wiederum mit den Ergebnissen der *in vivo*- Untersuchung vergleicht, ist eine ähnliche Tendenz erkennbar. Hier zeigt sich bei der ANOVA nach Tapestripping eine identische Reihenfolge, Chromameter 200

> Chromameter 300 > Mexameter Erythem > Colorimeter > Spectropen, und bei der Erfassung der Hautirritation durch SLS folgt den Chromametern das Mexameter und anschließend der Spectropen. Eine Diskriminierung durch das Colorimeter ist für die Hautrötung nach Irritation mit SLS nicht erkennbar.

Für die L*- Werte der *in vitro*- Untersuchung zeigt sich eine ähnliche Tendenz mit niedrigen CV's im Spektrum der Farben, die der Hautpigmentierung ähneln. Bei dem Melanin- Index des Mexameters fiel allerdings auf, dass keines der gemessenen Farbfelder die Werte der *in vivo*- Untersuchung adäquat widerspiegeln konnte, so dass ein Vergleich hier nur unzureichend möglich ist. Die Werte der Farbtafeln, die denen der Haut am nächsten kamen, zeigten relativ hohe Standardabweichungen, weshalb der Melanin-Index des Mexameters für diese Untersuchung als ungenauestes Messverfahren eingestuft wird.

In den *in vivo*- Messungen wiederum zeigte der Melanin-Index des Mexameters unter Betrachtung der Varianzanalyse die besten diskriminierenden Eigenschaften, sowohl für den Nachweis einer Irritation mittels SLS und TS, als auch für die Diskriminierung innerhalb der einzelnen TS- Abrisse, welche mit Hilfe einer ANOVA betrachtet wurde. Anschließend folgen für beide Arten der Irritation wieder die Chromameter 200 und 300, wobei die Messgenauigkeit des Chromameters 200 durch die beste diskriminierende Fähigkeit in der *in vitro*- Untersuchung unterstützt wird. Die hohe Sensitivität, welche aus den niedrigen Variationskoeffizienten resultiert, die *in vitro* vom Colorimeter erreicht werden, lassen sich nicht auf die Ergebnisse der *in vivo*- Untersuchung übertragen. Das Gleiche gilt für die Messergebnisse, die vom Spectropen erzielt wurden. Das Chromameter 300 liegt dementsprechend in beiden Untersuchungen weitestgehend im Mittelfeld und der Spectropen zeigt sowohl *in vitro*, als auch *in vivo* größere Streubreiten, bzw. geringere diskriminierende Eigenschaften und wird somit als ungenauestes Messgerät eingestuft.

5.5 Fehlerquellen

Es gibt verschiedene Variable, welche die Ergebnisse einer Untersuchung beeinflussen können. Einige von ihnen, welche auch im Handbuch für nicht- invasive Methoden von Serup et al. (2006) beschrieben werden, konnten schon zu Beginn der Untersuchungen durch Ein- und Ausschlusskriterien, sowie genaue Festlegung des Studienablaufs erfasst und als Störgrößen herausgefiltert werden. Dies betrifft vor allem das zu messende Hautareal, die Voraussetzung, dass keine Hauterkrankungen bestehen bzw. die Hautphysiologie beeinflussende Medikamente eingenommen wurden, den Hauttyp nach Fitzpatrick und konstante klimatische Messbedingungen, sowie saisonale Unterschiede. Bezüglich der Durchführung der einzelnen Messungen wurde darauf geachtet, dass sie von einer einzigen Person verrichtet wurden, um Unterschiede in den verschiedenen Messtechniken zu vermeiden.

Um sicherzugehen, dass bezüglich der Hautpigmentierung und – rötung gleiche Bedingungen auf den einzelnen Testfeldern bei allen Probanden bestehen, wurden die Basismessungen in einer ANOVA verglichen, welche aufzeigte, dass keine signifikanten Unterschiede bestanden. Die Testfelder wurden genau abgemessen und markiert, sodass Messungen immer auf dem gleichen Hautareal stattfanden. Trotzdem zeigten im Verlauf der Untersuchung nach Applikation von H₂O unter Okklusion die Messgeräte Chromameter 200 und 300 signifikante Unterschiede in der Hautpigmentierung in Form einer Abnahme des Melaningehalts. Diese Veränderung ist am ehesten dadurch zu erklären, dass es durch Einwirkung von Wasser zu einer Hyperhydratation der Keratinozyten kommt, wodurch das einfallende Licht stärker reflektiert wird und der farbliche Eindruck vorrangig durch das Wasser bestimmt wird. Aufgrund der Einwirkzeit von vier Stunden belief sich die Dauer einer kompletten Messreihe für jeden Probanden auf circa 7 Stunden, weshalb intraindividuelle physiologische Veränderungen, wie zum Beispiel die Körperaufwärmphase mit Dilatation der Hautgefäße und Wärmeabgabe nicht beeinflusst werden konnten. Es wurde jedoch darauf geachtet, dass sich die Probanden 30 Minuten vor dem jeweiligen Messbeginn unter standardisierten Raumbedingungen aufhielten, um diese Schwankungen so gering wie möglich zu halten.

In der Studie von Breternitz et al. (2006) wurde die Methode des Tapestrippings genauer untersucht und der Einfluss verschiedener Variablen auf die Messergebnisse betrachtet. Dort zeigte sich, dass es wichtig ist, das Messareal, den Zustand des Messareals (mit oder ohne

vorherige Okklusion), den Applikationsdruck und die Applikationsdauer, sowie die Art des Teststreifens genau zu definieren, da diese Variablen zu signifikanten Unterschieden in den Messergebnissen führten. Dies wurde bei der Durchführung dieser Art der Hautirritation in der Farbstudie beachtet, indem genau festgelegt wurde, als Klebefilm D- Squames der Firma CuDerm mit einem konstanten Druck von 2 Newton für zwei Sekunden zu applizieren.

1997 wurden von Tupker et al. Richtlinien zum Einsatz von SLS in dermatologischen Studien erstellt. Diese verdeutlichen, dass sowohl die Wahl der Konzentration von SLS, als auch Dauer, Menge und Art der Applikation wichtige Faktoren sind, welche das Ausmaß der Hautreizung beeinflussen. Mit Hilfe einer einheitlicher Verwendung von Finn Chambers bei allen Probanden, einer, laborinternen Richtlinien folgender Herstellung von 2%iger SLS-Lösung und Verwendung einer Pipettierhilfe konnte so der Einfluss dieser Störgrößen in der Farbstudie minimiert werden.

5.6 Schlussfolgerung

Ziel der Untersuchungen war es, eine milde Hautirritation mittels verschiedener Verfahren zu erzeugen und eine dadurch erfolgte Störung der Barrierefunktion mit resultierender Änderung der Hautrötung und Pigmentierung mit fünf Farbmessgeräten aufzuzeigen und eine Rangliste bezüglich ihrer Sensitivität zu erstellen. Vier Fragestellungen wurden diesbezüglich erstellt und sollen hier erneut aufgegriffen werden.

1. Gibt es eine sichtbare Veränderung der Hautrötung und der Pigmentierung nach mechanischer und chemischer Reizung und werden diese Unterschiede von den Farbmessgeräten erfasst?

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die fünf Farbmessgeräte Mexameter MX 18, Chromameter 200 und 300, Spectropen und Colorimeter eine Veränderung der Hautrötung und – pigmentierung nach Schädigung der Barrierefunktion des Stratum Corneum durch verschiedene Arten der Irritation wahrnehmen und in veränderten Messwerten widerspiegeln.

2. Bestehen Unterschiede in der Messgenauigkeit zwischen den einzelnen Farbmessgeräten im Zusammenhang mit der Pigmentierung bzw. Rötung und der Art der Irritation?

Eine Abstufung in der Messgenauigkeit der einzelnen Instrumente war für die Erythem- und Helligkeitswerte möglich. Sowohl für a^* , als auch für L^* zeigten die Chromameter 200 und 300 für alle Testfelder in der *in vivo*- Untersuchung die besten diskriminierenden Fähigkeiten, gefolgt vom Mexameter und dem Colorimeter. Am ungenauesten verhielten sich die Werte des Spectropens.

3. Lässt sich die Messgenauigkeit der einzelnen Farbmessgeräte *in vitro* auch auf Messungen *in vivo* übertragen?

Die Rangliste, die für die *in vivo*- Untersuchung erstellt wurde, war mit den Ergebnissen der *in vitro*- Untersuchung weitestgehend übereinstimmend. In diesem Abschnitt der Farbstudie konnte erfasst werden, dass die Farbmessgeräte in den Farbbereichen, die bezüglich der a^* - und L^* - Werte denen der menschlichen Haut ähneln, insgesamt niedrige relative Standardabweichungen in den Messungen aufzeigen und somit für präzise Messungen in dermatologischen Studien verwendet werden können.

4. Erfassen sie Unterschiede noch eher als das menschliche Auge?

Wie sich gerade beim Tapestripping und bei der Irritation der Haut durch Wasser unter Okklusion zeigte, resultieren nicht alle Arten der Hautirritation mit Barrierschädigung in einer durch die Farbmessgeräte erfassbaren signifikanten Veränderung der Hautrötung und – pigmentierung. Daher können sie nicht den Visual Score und die bewährten Messinstrumente wie Tewameter und Corneometer ersetzen. Sie stellen aber eine valide Ergänzung dieser Verfahren dar und ermöglichen eine differenziertere Betrachtung von Hautveränderungen, welche aufgrund äußerer Reize entstehen.

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1** Aufbau der Haut (Lippert 1996)
- Abb. 2** Histologischer Hautschnitt (Lippert 1996)
- Abb. 3** Spektrum elektromagnetischer Wellen (Harten 2001)
- Abb. 4** Farbspektrum des sichtbaren Lichts (Harten 2001)
- Abb. 5** Subtraktive Farbmischung auf einer Leinwand mit Hilfe dreier Farbfilter (Harten 2001)
- Abb. 6** Additive Farbmischung auf einer Mattscheibe mit Hilfe von drei Projektoren und deren Farbfiltern (Harten 2001)
- Abb. 7** Schematische Darstellung des menschlichen Auges (Gall 2008)
- Abb. 8** Aufbau der menschlichen Netzhaut (Golenhofen 2000)
- Abb. 9** Ausschnitt des dreidimensionalen Farbkörpers nach Munsell (Minolta 1996)
- Abb.10** Dreidimensionaler Farbkörper aus Farbton, Helligkeit und Sättigung (Minolta 1996)
- Abb.11** Normfarbtafel nach DIN 5033 mit E= Weißpunkt (Golenhofen 2000)
- Abb.12** Dreidimensionale Darstellung des Yxy- Farbsystems (Kuehni 1997)
- Abb.13** Spektralwertfunktionen für das menschliche Auge, festgelegt durch die CIE 1931 (Minolta 1996)
- Abb.14** Mexameter MX 18 (Courage & Khazaka, Köln)
- Abb.15** Basismesswerte der Bestimmung des Melaningehalts mittels Mexameter MX 18 auf den drei Testfeldern H₂O, TS und SLS sowie auf dem Kontrollfeld K
- Abb.16** Spectropen (Fa. Lange GmbH Berlin)
- Abb.17** Chromameter 300 Fa. Minolta (Berardesca et al. 1995)
- Abb.18** Anwendung der Colorimeter Sonde mit digitaler Verarbeitung durch entsprechende Software
- Abb.19** Anwendung der Tewameter- Sonde TM 300 (Khazaka 2004)
- Abb.20** Schematische Darstellung der TEWL- Sonde (Fluhr et al. 2005b)
- Abb.21** Anwendung der Corneometer – Sonde CM 825 (Fa. Courage & Khazaka) auf der Unterarminnenseite (Khazaka 2003)

- Abb.22** Farbtafeln *braun* und *bunt* (Firma Courage & Khazaka) mit Markierung der 31 gemessenen Farbfelder
- Abb.23** Tapestripping auf dem TS- Feld auf der Unterarminnenseite mit D- Squame (CuDerm Corporation, Dallas, Texas, USA)
- Abb.24** Basiswerte des TEWL zu Beginn der Studie auf den drei Testfeldern H₂O, TS und SLS, sowie auf dem Kontrollfeld K (Tewameter TM 300)
- Abb.25** Messwerte des TEWL (TM 300) auf dem Testfeld TS zu Beginn der Studie, nach 5,10-,15- und 20-maliger Behandlung mit Tape Stripping und nach 4 Stunden
- Abb.26** TEWL- Messwerte (TM 300) des SLS- Feldes und des H₂O- Testfeldes zu Beginn der Studie und nach 4 Stunden
- Abb.27** TEWL- Messwerte (TM 300) der drei Testfelder H₂O, TS und SLS, sowie des Kontrollfeldes K zu Beginn der Studie und nach 4 Stunden
- Abb.28** Basismesswerte der Kapazität des Stratum Corneum (SC) auf den vier Messfeldern K, H₂O, TS und SLS mittels CM 825
- Abb.29** Messwerte der Kapazität auf dem SLS- Testfeld zu Beginn der Studie und nach vier Stunden mittels CM 825
- Abb.30** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den Erythem- Index des Mexameters
- Abb.31** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den a*-Wert des Chromameters 200
- Abb.32** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den a*-Wert des Chromameters 300
- Abb.33** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dem dazugehörigen Variationskoeffizienten für den a*-Wert des Colorimeters
- Abb.34** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für den a*-Wert des Spectropens
- Abb.35** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Colorimeters
- Abb.36** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Chromameters 200

- Abb.37** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Chromameters 300
- Abb.38** Messergebnisse der *in vitro*- Untersuchung mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für die L*-Werte des Spectropens
- Abb.39** Messergebnisse der *in vitro*- Studie mit dazugehörigem Variationskoeffizienten für den Melanin- Index des Mexameters
- Abb.40** Veränderungen im Irritationsscore mit Mittelwerten zwischen 0,0 und 1,2 auf den vier Feldern Kontrolle, H₂O, TS und SLS im Verlauf der Studie

Tabellenverzeichnis

- Tab. 1** Hauttypen nach Fitzpatrick (Fitzpatrick 1988)
- Tab. 2** Soziografische Daten
- Tab. 3** Mittelwerte von Luftfeuchte und Raumtemperatur zu Studienbeginn und nach vier Stunden
- Tab. 4** P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA für die Baseline- Werte der Hauptpigmentierung auf allen Testfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 5** P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA für die Baseline- Werte der Hautrötung auf allen Testfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 6** Ergebnisse der Baseline- Messungen im Vergleich zu den Messungen nach 20 Abrissen für L* bzw. den Melanin Index auf dem TS- Feld mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD) und der P- und t- Werte des T- Tests mit einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 7** Ergebnisse der Baseline- Messungen im Vergleich zu den Messungen nach 20 Abrissen für a* bzw. den Erythem- Index auf dem TS- Feld mit Angaben

der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD) und der P- und t- Werte des T-Tests mit einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

- Tab. 8** Ergebnisse des T-Tests für die Messungen direkt nach Tapestripping im Vergleich zu den Messungen nach vier Stunden auf dem TS-Feld für L* bzw. den Melanin- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t- Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 9** Ergebnisse des T-Tests für die Messungen direkt nach Tapestripping im Vergleich zu den Messungen nach vier Stunden auf dem TS-Feld für a* bzw. den Erythem-Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t- Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 10** Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem TS- Feld für L* bzw. den Melanin Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 11** Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem TS-Feld für a* bzw. den Erythem- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 12** Ergebnisse der ANOVA für die Messungen der Pigmentierung auf dem TS-Feld zu den drei Messzeiten Baseline, a20TS und 4h mit Angaben der F- und p-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ und einer Signifikanzgrenze $F = 3,52$ bei drei Gruppen und 19 Freiheitsgraden, $n=20$
- Tab. 13** Ergebnisse der ANOVA für die Messungen der Hautrötung auf dem TS- Feld zu den drei Messzeiten Baseline, a20TS und 4h mit Angaben der F- und p-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ und einer Signifikanzgrenze $F = 3,52$ bei drei Gruppen und 19 Freiheitsgraden, $n=20$
- Tab. 14** Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem SLS-Feld für L* bzw. den Melanin- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 15** Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem SLS-Feld für a* bzw. den Erythem- Index

mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t-Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$

- Tab. 16** Ergebnisse des T-Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem H2O- Feld für L* bzw. den Melanin- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung (SD), t- Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 17** Ergebnisse des T- Tests für den Vergleich der Messungen zu Studienbeginn und nach vier Stunden auf dem H2O- Feld für a* bzw. den Erythem- Index mit Angaben der Mittelwerte (Mean), Standardabweichung(SD), t- Werte und P-Werte bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 18** P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA der Messwerte nach 4 Stunden für L* bzw. den Melanin- Index auf allen Testfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 19** P- und F-Werte der einfaktoriellen ANOVA der Messwerte nach 4 Stunden für a* bzw. den Erythem- Index auf allen Testfeldern bei einem Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$, $n = 20$
- Tab. 20** *in vivo*- Mittelwerte und vergleichbare *in vitro*- Mittelwerte der Farben von Farbtafel *braun* und *bunt* mit entsprechendem Variationskoeffizienten in % für die Basismessung Erythem
- Tab. 21** *in vivo*- Mittelwerte und vergleichbare *in vitro*- Mittelwerte der Farben von Farbtafel *braun* und *bunt* mit entsprechendem Variationskoeffizienten in % für die Messung der Pigmentierung

6. Literaturverzeichnis

- Agache P, Mary S, Muret P, Matta AM, Humbert P. 2001. Assessment of the Water Content of the Stratum corneum Using a Sorption- Desorption Test. *Dermatology*, 202:308-313.
- Agner T, Held E, West W, Gray J. 2000. Evaluation of an experimental patch test model for the detection of irritant skin reactions to moisturisers. *Skin Research and Technology*, 6:250-254.
- Agner T, Johansen JD, Overgaard L, Volund A, Basketter D, Menné T. 2002. Combined effects of irritants and allergens. Synergistic effects of nickel and sodium lauryl sulfate in nickel-sensitized individuals. *Contact Dermatitis*, 47:21-26.
- Andreassi L, Flori L. 1995. Practical Applications of Cutaneous Colorimetry. *Clinics in Dermatology*, 13:369-373.
- Bartels H. 2004. *Physiologie*. 7te Aufl. München: Urban & Fischer Verlag.
- Berardesca E. 1997. EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration:electrical methods. *Skin Research and Technology*, 3:126-132.
- Berardesca E, Maibach HI. 1988a. Racial differences in sodium lauryl sulphate induced cutaneous irritation:black and white. *Contact Dermatitis*, 18:65-70.
- Berardesca E, Maibach HI. 1988b. Sodium-lauryl-sulphate-induced cutaneous irritation.Comparison of white and Hispanic subjects. *Contact Dermatitis*, 19:136-140.
- Berardesca E, Elsner P, Wilhelm KP, Maibach HI. 1995. *Bioengineering of the skin: Methods and Instrumentation*. 3te Aufl. Boca Raton, New York, London, Tokyo: CRC Press.
- Berardesca E, Gabba P, Farinelli N, Borroni G, Rabbiosi G. 1989. Skin extensibility time in women.Changes in relation to sex hormones. *Acta Dermato-Venereologica* 69:431.
- Branco N, Lee I, Zhai H, Maibach HI. 2005. Long-term repetitive sodium lauryl sulfate-induced irritation of the skin: an in vivo study. *Contact Dermatitis*, 53:278-284.
- Breternitz M, Flach M, Präßler J, Elsner P, Fluhr JW. 2006. Acute barrier disruption by adhesive tapes is influenced by pressure, time and anatomical location: integrity and cohesion assessed by sequential tape stripping. A randomized, controlled study. *British Journal of Dermatology*, 156:231-240.
- Chamlin SL, Kao J, Frieden IJ, Sheu MY, Fowler AJ, Fluhr JW, Williams ML, Elias PM. 2002. Ceramide-dominant barrier repair lipids alleviate childhood atopic dermatitis: Changes in barrier function provide a sensitive indicator of disease activity. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 47:198-208.
- CIE, Hrsg. 1998. CIE S 005/D-1998 CIE Normlichtarten für Farbmessung. Press Release.
- Hrsg. 2004a. CIE Standard Illuminants. Press Release.
- CIE. 2004b. CIE Standard Colorimetric Observers
- Clarys P, Alewaeters K, Lambrecht R, Barel AO. 2000. Skin color measurements: comparison between three instruments: the Chromameter, the DermaSpectrometer and the Mexameter. *Skin Research and Technology*, 6:230-238.
- Cua AB, Wilhelm KP, Maibach HI. 1990. Cutaneous sodium lauryl sulphate irritation potential:age and regional variability. *British Journal of Dermatology*, 123:607-613.
- Darsow U, Vieluf D, Ring J. 1995. Atopy patch test with different vehicles and allergen concentrations: An approach to standardization. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 95:677-684.

- Deetjen P, Speckmann E-J. 2005. Physiologie. 4te Aufl. München, Stuttgart, Jena, Lübeck, Ulm: Urban & Fischer Verlag.
- Diepgen TL, Sauerbrei W, Fartasch M. 1996. Development and validation of diagnostic scores for atopic dermatitis incorporating criteria of data quality and practical usefulness. *Journal of Clinical Epidemiology*, 49:1031-1038.
- Elsner P, Berndt U, Schliemann-Willers S, Wigger-Alberti W, Gabard B. 2002. Wirksamkeit eines integrativen Hautschutzprogramms (Excipial Protect/Clean/Repair) in der Prävention des irritativen Kontaktexzems Basel:
- Farage MA, Ebrahimpour A, Steimle B, Englehart J, Smith D. 2007. Evaluation of lotion formulations on irritation using the modified forearm-controlled application test method. *Skin Research and Technology*, 13:268-279.
- Fitzpatrick TB. 1988. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Archives of Dermatology*, 124:869- 871.
- Fluhr JW, Cavallotti C, Berardesca E. 2008. Emollients, moisturizers, and keratolytic agents in psoriasis. *Clinics in Dermatology*, 26:380-386.
- Fluhr JW, Elsner P, Berardesca E, Maibach HI. 2005a. Bioengineering of the skin: Water and the Stratum Corneum. 2te Aufl. Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo CRC Press.
- Fluhr JW, Lazzerini S, Distant F, Gloor M, Berardesca E. 1999a. Effects of Prolonged Occlusion on Stratum corneum Barrier Function and Water Holding Capacity. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 12:193-198.
- Fluhr JW, Gloor M, Lehmann L, Lazzerini S, Distant F, Berardesca E. 1999b. Glycerol accelerates recovery of barrier function in vivo. *Acta Dermato- Venereologica*, 79:418-421.
- Fluhr JW, Kuss O, Diepgen T, Lazzerini S, Pelosi A, Gloor M, Berardesca E. 2001. Testing for irritation with a multifactorial approach: comparison of eight non-invasive measuring techniques on five different irritation types. *British Journal of Dermatology*, 145:696- 703.
- Fluhr JW, Praessler J, Akengin A, Fuchs SM, Kleesz P, Grieshaber R, Elsner P. 2005b. Air flow at different temperatures increases sodium lauryl sulphate-induced barrier disruption and irritation *in vivo*. *British Journal of Dermatology*, 152:1228-1234.
- Fluhr JW, Bornkessel A, Akengin A, Fuchs S, Norgauer J, Kleesz P, Grieshaber R, Elsner P. 2005c. Sequential application of cold and sodium lauryl sulphate decreases irritation and barrier disruption *in vivo* in humans. *British Journal of Dermatology*, 152:702-708.
- Fluhr JW, Akengin A, Bornkessel A, Fuchs S, Praessler J, Norgauer J, Grieshaber R, Kleesz P, Elsner P. 2005d. Additive impairment of the barrier function by mechanical irritation, occlusion and sodium lauryl sulphate in vivo. *British Journal of Dermatology*, 153:125-131.
- Frosch PJ, Kligman AM. 1979. The soap chamber test. A new method for assessing the irritancy of soaps. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1:35-41.
- Fullerton A, Fischer T, Lahti A, Wilhelm KP, Takiwaki H, Serup J. 1996. Guidelines for measurement of skin colour and erythema. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis. *Contact Dermatitis*, 35:1-10.
- Gall L. 2008. Farbmeterik <http://www.farbmeterik-gall.de>.
- Goh CL, Chia SE. 1988. Skin irritability to sodium lauryl sulphate- as measured by skin water vapour loss- by sex and race. *Clinical and Experimental Dermatology*, 13:16.
- Golenhofen K. 2000. Physiologie heute. Lehrbuch, Kompendium, Fragen und Antworten. 2te Aufl. München, Jena: Urban & Fischer Verlag.

- Gupta J, Grube E, Ericksen MB, Stevenson MD, Lucky AW, Sheth AP, Assa'ad AH, Khurana Hershey GK. 2008. Intrinsically defective skin barrier function in children with atopic dermatitis correlates with disease severity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 121:725-730.
- Haigh JM, Kanfer I. 1984. Assessment of topical corticosteroid preparations: the human skin blanching assay. *International Journal of Pharmaceutics*, 19:245-262.
- Harten U. 2001. Physik für Mediziner. 9te Aufl. Berlin, Heidelberg, New York, Barcelona, Hongkong, London, Mailand, Paris, Tokio: Springer.
- Hartung J, Elpelt B, Klösener K-H. 2005. Statistik Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik. 14.te Aufl. Oldenbourg: Oldenbourg Wissenschaftsverlag.
- Holm EA, Wulf HC, Thomassen L, Jemec GBE. 2006. Instrumental assessment of atopic eczema: Validation of transepidermal water loss, stratum corneum hydration, erythema, scaling, and edema. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55:772-780.
- <http://www.uni-oldenburg.de/zef/k3659/kap-5/vko-eig.html>. 2008.
- <http://www.zwisler.de/edv/anova.html>. 2008.
- Jakasa I, de Jongh CM, Verberk MM, Bos JD, Kezic S. 2006. Percutaneous penetration of sodium lauryl sulphate is increased in uninvolved skin of patients with atopic dermatitis compared with control subjects. *British Journal of Dermatology*, 155:104-109.
- Khazaka C. 2003. Das Corneometer CM 825
- Khazaka C. 2004. Das Tewameter TM 300
- Kligmann AM, Wooding WM. 1967. A method for the measurement and evaluation of irritants on human skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 49:78.
- Koopman DG, Kezic S, Verberk MM. 2004. Skin reaction and recovery: a repeated sodium lauryl sulphate patch test vs. a 24-h patch test and tape stripping. *British Journal of Dermatology*, 150:493-499.
- Kuehni RG. 1997. Color An Introduction To Practice And Principles. 1te Aufl. New York ,Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, Weinheim: John Wiley& Sons, Inc.
- Kühnel W. 1992. Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie. 8te Aufl. Stuttgart, New York: Thieme Verlag.
- Lammintausta K, Maibach HI, Wilson D. 1987. Irritant reactivity in males and females. *Contact Dermatitis*, 17:276-280.
- Lange B. 1998. Spectro-Pen Bedienungsanleitung
- Lippert H. 1996. Lehrbuch Anatomie. 5te Aufl. München, Jena: Urban & Fischer Verlag.
- Löffler H, Effendy I. 1999. Skin susceptibility of atopic individuals. *Contact Dermatitis*, 40:239-242.
- Löffler H, Becker D, Brasch J, Geier J. 2005. Simultaneous sodium lauryl sulphate testing improves the diagnostic validity of allergic patch tests. Results from a prospective multicentre study of the German Contact Dermatitis Research Group *British Journal of Dermatology*, 152:709-719.
- Mahmoud BH, Hexsel CL, Hamzavi IH, Lim HW. 2008. Effects of Visible Light on the Skin. *Photochemistry and Photobiology*, 84:450-462.
- Marrakchi S, Maibach HI. 2006. Sodium lauryl sulfate-induced irritation in the human face:regional and age- related differences. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 19:177-180.
- Marrakchi S, Maibach HI. 2007. Biophysical parameters of skin: map of human face regional, and age- related differences. *Contact Dermatitis*, 57:28-34.

- Matts PJ, Dykes PJ, Marks R. 2007. The distribution of melanin in skin determined *in vivo*. *British Journal of Dermatology*, 156:620-628.
- Minolta. 1996. Exakte Farbkommunikation
- Miteva M, Richter S, Elsner P, Fluhr JW. 2006. Approaches for optimizing the calibration standard of Tewameter TM 300. *Clinical and Experimental Dermatology*, 15:904-912.
- Ortiz PG, Hansen SH, Shah VP, Menné T, Benfeldt E. 2008. The effect of irritant dermatitis on cutaneous bioavailability of a metronidazole formulation, investigated by microdialysis and dermatopharmacokinetic method. *Contact Dermatitis*, 59:23-30.
- Park SB, Suh DH, Youn JI. 1999. A long-term time course of colorimetric evaluation of ultraviolet light-induced skin reactions. *Clinical and Experimental Dermatology*, 24:315-320.
- Pershing LK, Lambert LD, Shah VP, Lam SY. 1992. Variability and correlation of chromameter and tape-stripping methods with the visual skin blanching assay in the quantitative assessment of topical 0.05% betamethasone dipropionate bioavailability in humans. *International Journal of Pharmaceutics*, 86:201-210.
- Pierard GE. 1998. EEMCO guidance for the assessment of skin colour. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 10:1-11.
- Pinnagoda J, Tupker RA, Agner T, Serup J. 1990. Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement. A report from the Standardization Group of the European Society of Contact Dermatitis *Contact Dermatitis*, 22(3):164-178.
- Poon TSC, Kuchel JM, Badruddin A, Halliday GM, Barnetson RS, Iwaki H, Hatao M. 2003. Objective Measurement of Minimal Erythema and Melanogenic Doses Using Natural and Solar-simulated Light. *Photochemistry and Photobiology*, 78:331-336.
- Richter M. 1981. Einführung in die Farbmetrik. 2te Aufl. Berlin, New York: Walter de Gruyter Verlag.
- Robertson AR. 1977. The CIE 1976 colour difference formulas. *Color Res Appl*, 2:7-11.
- Rogiers V, Group E. 2001. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 14:117-128.
- Schmidt RF, Thews G. 2005. Physiologie des Menschen. 29te Aufl. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag.
- Schultze W. 1957. Farbenlehre und Farbmessung. 1te Aufl. Berlin, Göttingen, Heidelberg: Springer.
- Schwarb FP, Smith EW, Haigh JM, Surber C. 1999. Analysis of chromameter results obtained from corticosteroid- induced skin blanching assay: comparison of visual and chromameter data. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 47:261-267.
- Serup J, Jemec GBE, Grove GL. 2006. Handbook of non-invasive methods and the skin. 2te Aufl. Boca Raton: CRC Press.
- Shah VP, Flynn GL, Yacobi A, Maibach HI, Bon C, Fleischer N, Franz TJ, Kaplan SA, Kawamoto J, Lesko LJ, Marty J-P, Pershing LK, Schaefer H, Sequeira JA, Shrivastava SP, Wilkin J, Williams RL. 1998. Bioequivalence of Topical Dermatological Dosage Forms - Methods of Evaluation of Bioequivalence. *Pharmaceutical Research*, 15:167-171.
- Sugár M, Schnetz E, Fartasch M. 1999. Does sodium lauryl sulfate concentration vary with time? *Contact Dermatitis*, 40:146-149.
- Tagami H, Kanamaru Y, Inoue K, Suehisa S, Inoue F, Iwatsuki K, Yoshikuni K, Yamada M. 1982. Water sorption-desorption test of the skin *in vivo* for functional assessment of the stratum corneum. *Journal of Investigative Dermatology*, 5:425-428.

- Tupker RA, Willis C, Berardesca E, Lee CH, Fartasch M, Agner T, Serup J. 1997. Guidelines on sodium lauryl sulfate (SLS) exposure tests. *Contact Dermatitis*, 17:53-69.
- Vertuani S, Ziosi P, Solaroli N, Buzzoni V, Carli M, Lucchi E, Valgimigli L, Baratto G, Manfredini S. 2003. Determination of antioxidant efficacy of cosmetic formulations by non-invasive measurements *Skin Research and Technology*, 9:245-253.
- Weatherall IL, Coombs BD. 1992. Skin color measurements in terms of CIELAB color space values. *Journal of Investigative Dermatology*, 99:468-473.
- Wilhelm KP, Kaspar K, Funkel O. 2001. Comparison of three techniques for evaluating skin erythema response for determination of sun protection factors of sunscreens: high resolution laser Doppler imaging, colorimetry and visual scoring. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 17:60-65.
- Wilhelm KP, Elsner P, Berardesca E, Maibach HI. 1997. *Bioengineering of the Skin: Skin Surface Imaging and Analysis*. 1te Aufl. Boca Raton, New York, London, Tokyo: CRC Press.
- Wilson J, Hawkes JFB. 1989. *Optoelectronics An Introduction*. 2te Aufl. New York, London, Toronto, Sydney, Tokyo, Singapore: Prentice Hall.

7. Anhang

Abbildung der Farbtafeln *braun* und *bunt* (Fa. Courage & Khazaka)

Case Report Form

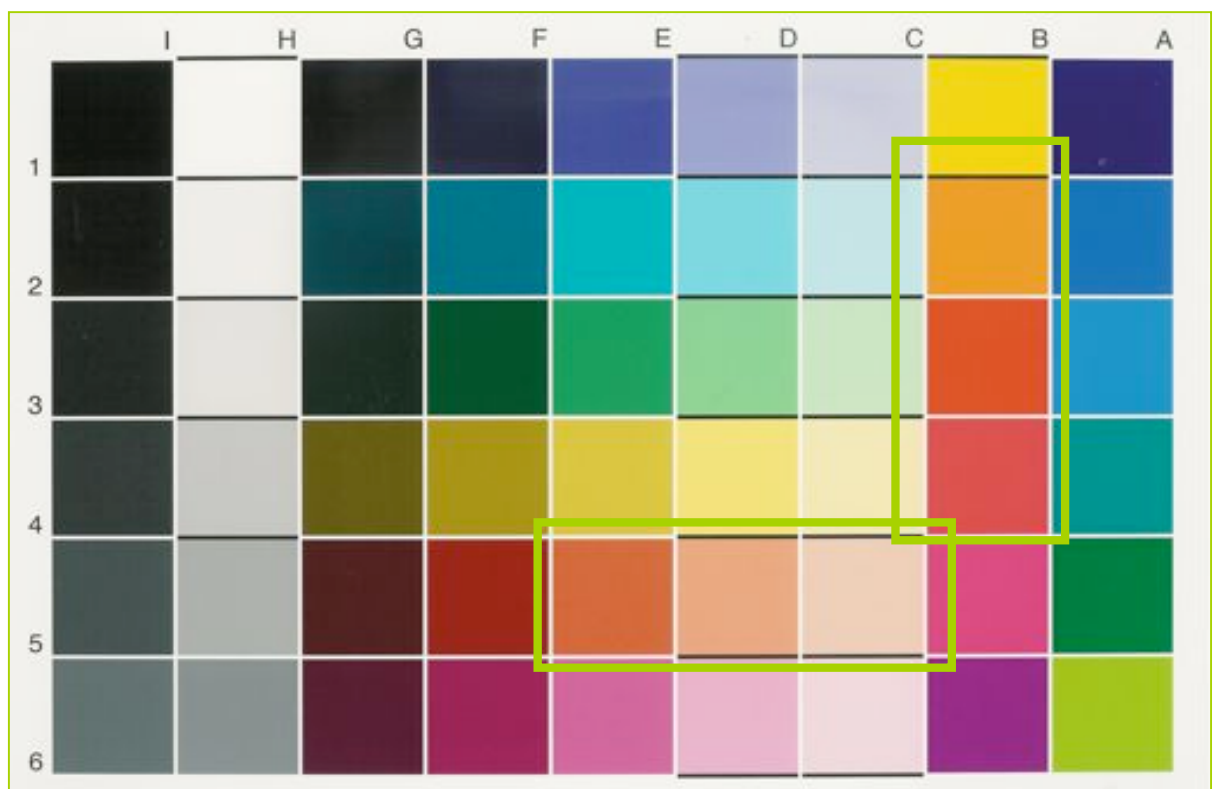
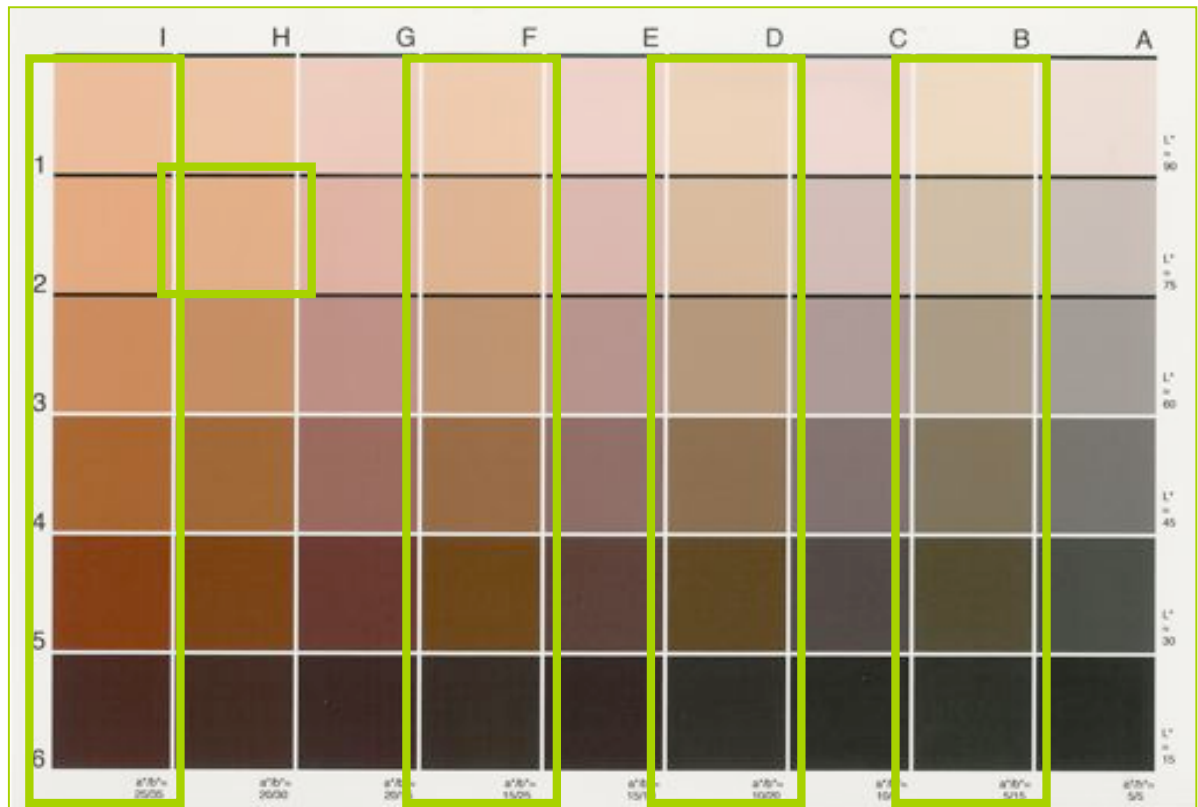
Danksagung

Lebenslauf

Ehrenwörtliche Erklärung

Farbtafeln *braun* und *bunt* (Firma Courage & Khazaka)

mit Markierung der gemessenen Farbfelder





seit 1558

Universitätsklinikum Jena

CASE REPORT FORM

Untersuchung der Hautrötung bei Probanden mit Hauttyp 2-3 nach Fitzpatrick mittels verschiedener optischer Messverfahren

Probandennummer (Reihenfolge des Einschlusses):

Probandeninitialen (Vorname, Nachname):

Probanden-Code (Probanden/Patienten-Nr. + Initialen)

Nummer im Hautphysiologischen Labor (Computer):

Geschlecht männlich weiblich

Alter: _____

Hauttyp nach Fitzpatrick: _____

Datum: _____

Unterschrift des Untersuchers: _____

Version vom 14.05.2007

Aufklärung des Probanden erfolgt ☐ ja ☐ nein

Einwilligung unterschrieben ☐ ja, Datum: _____ ☐ nein

Einschluß und Baseline-Messungen (V1) Datum: _____

Hauttyp nach Fitzpatrick

Typ	Dermatitis solaris („Sonnenbrand“)	Bräunung
I	immer, stark ausgeprägt	nie
II	immer	evtl. leicht
III	möglich	ja
IV	sehr selten	stark
V	nie	natürliche braune Pigmentierung
VI	nie	schwarze Hautfarbe

Einschlusskriterien:

Die Probanden müssen jeweils alle der genannten Kriterien erfüllen:

1. Alter 18 bis 50 Jahre ☐ ja ☐ nein
2. Schriftliche Einwilligungserklärung zur Studie und zum Studienablauf ☐ ja ☐ nein
3. Atopiescore nach Diepgen mit Punktwert ≤ 10 ☐ ja ☐ nein
4. keine Anwendung von Seifen, Badeölen, Schaum- oder Duschbädern oder Kosmetika wie Cremes, Lotionen oder Salben 48 Stunden vor Studienbeginn und während der Studiendauer im Bereich der Unterarminnenseiten ☐ ja ☐ nein
5. Melanin-Index (mit Mexameter gemessen) < 200 ☐ ja ☐ nein

Zu 3.: Erlanger Atopiescore nach Diepgen

Atopische Familienanamnese (Verwandte 1. Grades)

	nein	ja	k.A.	Punkte	Erreichte Punkte
Ekzeme		p	p	2	
Rhinitis/ Asthma	p	p	p	1	

Atopische Eigenanamnese:

	nein	ja	k.A.	Punkte	Erreichte Punkte
Beugenekzem	p	p	p	-,-	
Rhinitis/Konjunktivitis	p	p	p	1	
Asthma allergicum	p	p	p	1	
Milchschorf	p	p	p	1	
Juckreiz (verstärkt bei Schwitzen auf unbef. Haut)	p	p	p	3	
Textilunverträglichkeit	p	p	p	3	
Metallunverträglichkeit	p	p	p	1	
Photophobie	p	p	p	1	
Nahrungsmittelunverträglichkeit	p	p	p	-,-	

Atopische Minimalformen (anamnestisch/klinisch)

	nein	ja	k.A.	Punkte	Erreichte Punkte
Xerosis	p	p	p	3	
Ohrhagaden/-ekzem	p	p	p	2	
Sog. Dyshidrose/dyshidr. Handekzem	p	p	p	2	

Pityriasis alba	p	p	p	2	
Sog. Winterfuß/Pulp. Sicca	p	p	p	2	
Brustwarzenekzem	p	p	p	2	
Perlèche	p	p	p	1	

Atopische Stigmata:

	nein	unklar	mäßig	stark	Punkte	Erreichte Punkte
Palmare Hyperlinearität	p	p	p	p	2	
Hertoghe Zeichen	p	p	p	p	2	
Sog. „Dirty neck“	p	p	p	p	2	
Keratosis pilaris	p	p	p	p	1	
Doppelte Lidfalte	p	p	p	p	-, -	
Periorbitale Verschattung	p	p	p	p	-, -	
Pelzmützenförmiger Haaransatz	p	p	p	p	-, -	

Dermales Neurovegetativum:

	nein	ja	k.A.	Punkte	Erreichte Punkte
Weißer Dermographismus	p	p	p	3	
Akrozyanose	p	p	p	1	

Gesamtpunktzahl: _____**Beurteilung Atopische Hautdiathese**

Punkte	%Anteil	Atopische Hautdiathese
0-3	0	keine
4-7	5	unwahrscheinlich
8-9	34	unklar
10-14	78	sicher
15-19	97	sicher
>20	100	sicher

1. dermatologische Erkrankung (Haut, Schleimhaut) ☐ ja ☐ nein
2. schwere internistische bzw. Erkrankungen des Immunsystems (Z-N, Thc, LE, HIV, Hepatitis B/C, Thyreoiditis) ☐ ja ☐ nein
3. Allergien gegen Bestandteile von Tesafilm oder von Klebstoffen ☐ ja ☐ nein
4. Schwangerschaft und Stillzeit ☐ ja ☐ nein
5. Dermatologische Lokalthherapie innerhalb der letzten 2 Wochen auf den Unterarmen ☐ ja ☐ nein
6. orale Anwendung von cortisonhaltigen Präparaten, Antibiotika u. Antihistaminika in den letzten 4 Wochen ☐ ja ☐ nein
7. Manipulationen auf den Unterarminnenseiten wie Rasieren, Tattoo etc. in den letzten 4 Wochen ☐ ja ☐ nein
8. vorherige Teilnahme an einer anderen Studie im Zeitraum von 30 Tagen ☐ ja ☐ nein

Zu 5.: Melanin-Index (Soll: < 200)

Messung mit Mexameter auf einer Unterarminnenseite: _____

Ausschlusskriterien

Probanden die eines oder mehrere der aufgeführten Kriterien erfüllen, dürfen nicht in die Studie eingeschlossen werden:

(siehe oben)

Der Proband/Patient wurde erfolgreich in die Studie eingeschlossen. () ja ()
nein

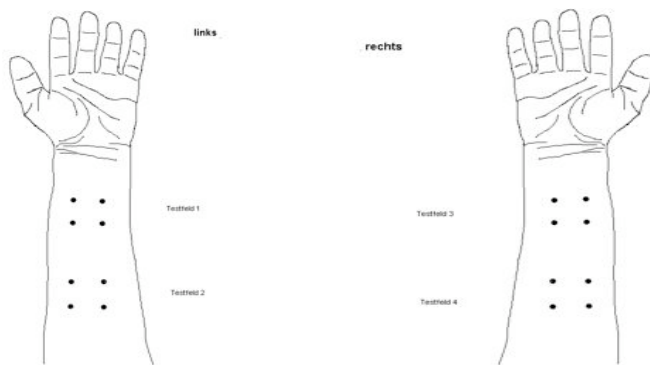
Anwendung von Medikamenten

Medikament (Freiname)	Wirk- substanz	Dosierung, Anwendungsweg, Häufigkeit der Einnahme	Anwendung seit	Indikation

Raumtemperatur: _____
Luftfeuchtigkeit: _____

gewünschte Raumtemperatur: 20 +/- 1C°,
gewünschte Luftfeuchtigkeit: 20 – 40 %

Festlegung der 4 Unterarmfelder mittels Randomisierungsliste



Testfeld 1: _____
Testfeld 2: _____
Testfeld 3: _____
Testfeld 4: _____

Adaptierter Irritationsscore n. Frosch u. Kligman (Frosch/Kligman 1979, Tupker et al. 1997):

Erythem

- 0 - keine sichtbare Hautveränderung
- 0,5 - sehr geringe Rötung/fraglich
- 1 - leichte Rötung, fleckförmig oder diffus
- 2 - mäßige, gleichmäßige Rötung
- 3 - starke Rötung

Rauhigkeit/Trockenheit/Oberfläche

- 0 - keine sichtbare Hautveränderung
- 0,5 - glänzende Oberfläche
- 1 - leichte Rauhigkeit oder runzlige Oberfläche
- 2 - mäßige Rauhigkeit
- 3 - deutliche Rauhigkeit

Schuppung

- 0 - keine sichtbare Hautveränderung
- 1 - angedeutet/wenige Schuppen
- 2 - mäßige Schuppung
- 3 - stark mit großen Schuppen

Ödem

- 0- keine sichtbaren Hautveränderungen
- 1- leichtes Ödem
- 2- mäßiges Ödem
- 3- starkes Ödem

Fissuren

- 0- keine sichtbaren Hautveränderungen
- 1- feine Fissuren
- 2- einzelne oder zahlreiche breitere Fissuren
- 3- weite Fissuren mit Hämorrhagie oder Exsudation

Kontrolle					Feld SLS				
Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren	Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren
SCORE (Summe Einzelwerte):					SCORE (Summe Einzelwerte):				

Feld H ₂ O					Feld TS				
Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren	Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren
SCORE (Summe Einzelwerte):					SCORE (Summe Einzelwerte):				

Messungen

Unterarmfeld: Kontrolle SLS H₂O TS

TEWL Messung 1				
TEWL Messung 2				
Corneometrie 1-3	x	x	x	x
Mexametrie 1+2	x	x	x	x
Chromametrie 200 1-3	x	x	x	x
Chromametrie 300 1-3	x	x	x	x
Spectropen 1 L a b				
Spectropen 2 L a b				
Spectropen 3 L a b				
Colorimeter 1 L a b				
Colorimeter 2 L a b				
Colorimeter 3 L a b				

Induktion von Farbänderungen:

mit SLS

1 Finn Chamber geklebt (Feld SLS)

ja nein

Irritation mit SLS: 200µl SLS Lösung, Finn Chamber 18 mm, 4h

mit H₂O

1 Finn Chamber geklebt (Feld H₂O)

ja nein

Irritation mit H₂O: 200µl destl. Wasser, Finn Chamber 18 mm, 4h

mit Tapestripping

20 D-Squames, 2N-Stempel, 2s (Feld TS)

TEWL	nach 5 Tapes	nach 10 Tapes	nach 15 Tapes	nach 20 Tapes
Messung 1				
Messung 2				

Adaptiver Irritationsscore nach TS				
Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren
SCORE (Summe Einzelwerte):				

Messung nach dem TS

[illegible]

Unterschrift des Untersuchers: _____

V2-Messungen der Felder nach 4 Stunden

Unerwünschte Ereignisse

() ja ()

nein

Adaptierter Irritationsscore n. Frosch u. Kligman (Frosch/Kligman 1979, Tupker et al. 1997):

Erythem

- 0 - keine sichtbare Hautveränderung
- 0,5 - sehr geringe Rötung/fraglich
- 1 - leichte Rötung, fleckförmig oder diffus
- 2 - mäßige, gleichmäßige Rötung
- 3 - starke Rötung

Ödem

- 0- keine sichtbaren Hautveränderungen
- 1- leichtes Ödem
- 2- mäßiges Ödem
- 3- starkes Ödem

Rauhigkeit/Trockenheit/Oberfläche

- 0 - keine sichtbare Hautveränderung
- 0,5 - glänzende Oberfläche
- 1 - leichte Rauhigkeit oder runzlige Oberfläche
- 2 - mäßige Rauhigkeit
- 3 - deutliche Rauhigkeit

Fissuren

- 0- keine sichtbaren Hautveränderungen
- 1- feine Fissuren
- 2- einzelne oder zahlreiche breitere Fissuren
- 3- weite Fissuren mit Hämorrhagie oder Exsudation

Schuppung

- 0 - keine sichtbare Hautveränderung
- 1 - angedeutet/wenige Schuppen
- 2 - mäßige Schuppung
- 3 - stark mit großen Schuppen

Kontrolle					Feld SLS				
Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren	Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren
SCORE (Summe Einzelwerte):					SCORE (Summe Einzelwerte):				

Feld H ₂ O					Feld TS				
Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren	Erythem	Rauhigkeit	Schuppung	Ödem	Fissuren
SCORE (Summe Einzelwerte):					SCORE (Summe Einzelwerte):				

Cave:

Feld SLS: nach Entfernung FinnChamber kurz mit dest. Wasser abtupfen, Trockentupfen mit Tuch,

Akklimatisationsphase 30 min

Feld H₂O: nach Entfernung FinnChamber Akklimatisationsphase 30 min

Raumtemperatur: _____

Luftfeuchtigkeit: _____

gewünschte Raumtemperatur: 20 +/- 1C°,
gewünschte Luftfeuchtigkeit: 20 – 40 %

Messungen

Unterarmfeld:		Kontrolle	SLS	H ₂ O	TS
TEWL Messung 1					
TEWL Messung 2					
Corneometrie 1-3		x	x	x	x
Mexametrie 1+2		x	x	x	x
Chromametrie 200 1-3		x	x	x	x
Chromametrie 300 1-3		x	x	x	x
Spectropen 1	L a b				
Spectropen 2	L a b				
Spectropen 3	L a b				
Colorimeter 1	L a b				
Colorimeter 1	L a b				
Colorimeter 1	L a b				

Bewertung Compliance (1*-exzellent; 1-sehr gut; 2-mäßig; 3-schlecht)

1* O 1 O 2 O 3 O

Unterschrift des Untersuchers: _____

Danksagung

Ich möchte mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. P. Elsner für die Betreuung dieser Doktorarbeit bedanken.

Mein Dank gilt insbesondere auch Herrn PD Dr. Joachim Fluhr, der mich trotz seines Wechsels nach Berlin intensiv bei der Bearbeitung des Themas und Fertigstellung der Dissertation unterstützte. Ohne ihn wäre die vorliegende Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen. Weiterhin möchte ich mich bei Frau Nancy Schmidt (Arzthelferin/Studienschwester) für ihre geduldige Unterstützung gerade in der Anfangsphase bei der Einarbeitung in die einzelnen Messverfahren und während der Datenerhebung bedanken. Mein Dank gilt zudem Frau Dr. Maria Breternitz, an die ich mich ebenfalls mit Fragen und Problemen wenden konnte, dem bedauerlicherweise mittlerweile verstorbenen Herrn W. Schuhmacher, der mir sein Photolabor für die *in vitro*- Messungen zur Verfügung stellte und an all diejenigen, die sich die Zeit genommen haben, Entwürfe meiner Arbeit zu lesen und ehrliche Kritik zu üben.

Lebenslauf

Geburtsdatum: 02.03.1983

Geburtsort : Erfurt

Nationalität : Deutsch

02.09.1989	Einschulung, POS 45 „Georgi Dimitroff“ in Erfurt
02/1990 – 07/1991	OS 30 „Heinrich Mann“ in Erfurt
1991 – 1993	Grundschule 30 in Erfurt
1993 – 2002	Heinrich – Mann- Gymnasium in Erfurt
1999 – 2000	Austauschjahr in den USA, Abschluss mit Honorary High School Diploma
2002	Abitur am Heinrich-Mann-Gymnasium Erfurt
ab 2002	Medizinstudium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Sommer 2004	Abschluss der Vorklinik mit dem Physikum, Beginn des Klinischen Abschnitts
Sommer 2005	Famulatur in einer Praxis für Pädiatrie in Erfurt
Frühjahr 2006	Famulatur an der Klinik für HNO in Jena
Sommer 2006	Famulatur am Vivantes Klinikum für Geburtsmedizin in Berlin Famulatur an der Klinik für Psychiatrie in Jena
Frühjahr 2007	Famulatur am Haydom Lutheran Hospital in Tanzania
08/2007- 07/2008	Praktisches Jahr: 1. Tertiär Innere Medizin, KKH Erfurt 2. Tertiär Chirurgie, Sofie-Hufeland-Klinik Weimar 3. Tertiär Gynäkologie und Geburtshilfe, Spital Thun, Schweiz
Voraussichtlich Frühjahr 2009	2. Staatsexamen, Abschluss des Studiums

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Prof. Dr. P. Elsner und PD Dr. J.W. Fluhr,
- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,
- dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und
- ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Katharina Krull